

SÉRIE A N° 1464

N° D'ORDRE :

2330

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

ANDRÉ BONOT

Ingénieur E. P. C. I.

Assistant à l'Institut de Physiologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg

1^{re} THÈSE — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA CONSTITUTION
DES PROTÉIDES.

2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 7 février 1934 devant la Commission d'examen

MM. G. URBAIN . . . *Président.*

J. PERRIN . . . { *Examineurs.*

H. MOUTON . . . }

PARIS (V°)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49. Boulevard Saint-Michel, 49

SÉRIE A N° 1464

N° D'ORDRE :

2330

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

PAR

ANDRÉ BONOT

Ingénieur E. P. C. I.

Assistant à l'Institut de Physiologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg

1^{re} THÈSE — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA CONSTITUTION
DES PROTÉIDES.

2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **février 1934** devant la Commission d'examen

MM. G. URBAIN . . .	<i>Président.</i>
J. PERRIN . . .	} <i>Examineurs.</i>
H. MOUTON . . .	

PARIS (V°)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49

1934

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire. . . . M. MOLLIARD.

Doyen. C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

<i>Professeurs honoraires</i>	H. LE CHATELIER.	LÉON BRILLOUIN.
	H. LEBESGUE.	GOURSAT.
	A. FERNBACH.	WALLERANT.
	A. LEDUC.	GUILLET.
	Émile PICARD.	PECHARD.
	Rémy PERRIER.	FREUNDLER.

PROFESSEURS

P. JANET.	T	Électrotechnique générale.	E. DARMOIS	Physique.
G. BERTRAND. . .	T	Chimie biologique.	A. DEBIERNE. . . .	Radioactivité.
M ^{re} P. CURIE. . . .	T	Physique générale.	A. DUFOUR.	T Physique (P. C. N.).
M. CAULLERY. . .	T	Zoologie (Évolution des êtres organisés).	L. DUNOYER.	Optique appliquée.
G. URBAIN.	T	Chimie générale.	A. GUILLIERMOND	T Botanique (P. C. N.).
Émile BOREL. . . .	T	Calcul des probabilités et Physique mathém.	M. JAVILLIER. . . .	Chimie biologique.
L. MARCHIS.	T	Aviation.	L. JOLEAUD.	Paléontologie.
Jean PERRIN. . . .	T	Chimie physique.	ROBERT-LÉVY. . . .	Zoologie.
H. ABRAHAM. . . .	T	Physique.	H. MOUTON.	Chimie physique.
E. CARTAN.	T	Géométrie supérieure.	F. PICARD.	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
M. MOLLIARD. . . .	T	Physiologie végétale.	Henri VILLAT. . . .	T Mécanique des fluides et applications.
L. LAPICQUE. . . .	T	Physiologie générale.	Ch. JACOB.	T Géologie.
E. VESSIOT.	T	Théorie des fonctions et théorie des transformations.	P. PASCAL.	T Chimie minérale.
A. COTTON.	T	Physique.	M. FRÉCHET.	T Calcul des Probabilités et Physique mathématique
J. DRACH.	T	Analyse supérieure	E. ESCLANGON. . . .	T Astronomie.
Charles FABRY. . .	T	Physique.	M ^{re} RAMART-LUCAS	Chimie organique.
Charles PÉREZ. . .	T	Zoologie.	H. BÉGHIN.	T Mécanique physique et expérimentale.
LÉON BERTRAND. .	T	Géologie structurale et géologie appliquée.	FOCH.	Mécanique expérimentale des fluides.
É. BLAISE.	T	Chimie organique.	PAUTHENIER.	Physique (P. C. N.).
R. LESPIEAU. . . .	T	Théories chimiques.	De BROGLIE.	T Théories physiques.
P. PORTIER.	T	Physiologie comparée.	CHRÉTIEN.	Optique appliquée.
E. RABAUD.	T	Biologie expérimentale.	P. JOB.	Chimie générale.
P.-A. DANGEARD. .	T	Botanique.	LAHROUSTE.	Physique du Globe.
V. AUGER.	T	Chimie appliquée.	PRENANT.	Zoologie.
M. GUICHARD. . . .	T	Chimie minérale.	VILLEY.	Mécanique physique et expérimentale.
Paul MONTEL. . . .	T	Mécanique rationnelle.	BOHN.	Zoologie (P. C. N.).
P. WINTREBERT. .	T	Anatomie et histologie comparées.	COMBES.	Sciences naturelles (P. C. N.).
L. BLARINGHEM. .	T	Botanique.	GARNIER.	Mécanique rationnelle.
O. DUBOSCQ. . . .	T	Biologie maritime.	PÉRÈS.	Mécanique des fluides.
G. JULIA.	T	Mécanique analytique.	HACKSPILL.	Chimie (P. C. N.).
C. MAUGUIN. . . .	T	Minéralogie.	LAUGIER.	Physiologie générale.
A. MICHEL-LÉVY. .	T	Pétrographie.	TOUSSAINT.	Technique Aéronautique
H. BÉNARD.	T	Mécanique expérimentale des fluides.	M. CURIE.	Physique (P. C. N.).
A. DENJOY.	T	Calcul différentiel et calcul intégral.	G. RIBAUD.	T Hautes températures.
L. LUTAUD.	T	Géographie physique et géologie dynamique.	CHAZY.	Mathématiques.
Eugène BLOCH. . .	T	Physique théorique et physique céleste.	GAULT.	Chimie (P. C. N.).
G. BRUHAT.	T	Physique.	CROZE.	Physique.
			DUFONT.	Chimie (P. C. N.).

Secrétaire. A. PACAUD.
Secrétaire honoraire. D. TOMBECK.



A MA FEMME

A MA MÈRE

A MON ONCLE

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GEORGES SCHAEFFER

*Hommage de profonde gratitude
et d'affection respectueuse.*

AVANT-PROPOS

Les recherches qui sont exposées dans ce travail ont été faites à l'Institut de Physiologie de la Faculté de Médecine de Strasbourg. Nous sommes heureux de témoigner ici toute notre reconnaissance à notre Maître M. le Professeur G. SCHAEFFER qui nous a inspiré ces recherches et nous a guidé de ses conseils bienveillants, nous faisant constamment profiter de son expérience.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à M. le Professeur G. URBAIN, Membre de l'Institut, pour ses conseils qui nous ont été d'un précieux secours dans la présentation de ce travail et pour avoir accepté la présidence de notre thèse.

Pour l'aide amicale qu'il nous a constamment apportée, M. le Docteur Th. CAHN, Chef de Service adjoint à l'Institut de Biologie physico-chimique, voudra bien trouver ici l'expression de notre vive reconnaissance.

M. le Professeur J. PERRIN, Membre de l'Institut, et M. le Professeur H. MOUTON ont bien voulu faire partie de notre jury. nous leur en gardons une respectueuse gratitude.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA CONSTITUTION DES PROTÉIDES

CHAPITRE PREMIER

INTRODUCTION

Le but de ce travail est de montrer que l'on peut considérer un protéide (*) comme un mélange de particules homéomères entre elles. Selon la notion introduite par URBAIN ⁽¹⁰⁶⁾, deux corps sont homéomères quand ils ont des coefficients énergétiques moléculaires égaux deux à deux. La connaissance de quatre coefficients thermo-élastiques, par exemple les coefficients de dilatation et de compressibilité et les deux chaleurs spécifiques permet de connaître toutes les propriétés thermo-élastiques d'un corps. Ainsi de l'homéométrie thermo-élastique de deux corps dérive l'isomorphisme de leurs formes cristallines lorsqu'ils existent à l'état solide et aussi la possibilité de syncristallisation puisque, possédant même volume moléculaire, ils satisfont aux conditions fixées par DUHEM. L'homéométrie thermo-élastique correspond très généralement à une analogie étroite dans le domaine chimique et dans les autres domaines en raison des relations qui existent entre toutes les propriétés d'un corps.

Nous pourrions montrer dans ce travail que certains protéides se comportent comme le ferait un mélange d'espèces différentes, mais de propriétés très voisines, capables de précipiter, de cristalliser quelquefois de leurs solutions en donnant une phase unique commune (des cristaux mixtes, une solution solide, une phase mésomorphe unique). Cela permet de rendre compte quantitativement de caractères que l'on observe lorsqu'on étudie la solubilité de la sérum albumine dans des solutions concentrées de sulfate d'ammoniaque, caractères particuliers mis en évidence par SÖRENSEN et que nous étudions spécialement dans ce travail. On ne peut parler de solubilité que si l'on s'adresse à des solutions vraies. Les travaux de LOEB ⁽⁶⁶⁾ ont montré que la gélatine, l'ovalbumine, la sérum albumine non dénaturées ne sont pas dispersées dans les milieux aqueux sous la forme de particules solides ou de gouttelettes liquides chargées au contact du milieu de dispersion comme cela se produit pour les suspensions

(*) Conformément à la nomenclature actuelle, nous appelons protéides les groupes de substances désignées autrefois sous le nom d'albumines et dont l'hydrolyse fournit en majeure partie des acides aminés, le mot protide désignant ensemble acides aminés, peptides et protéides.

de collodion ou les émulsions d'huile. Une solution d'un des protéides que nous venons de citer diffère d'une solution d'un cristalloïde ordinaire (peptide ou acide aminé) par les dimensions des particules dissoutes, mais en somme, on a le droit de considérer une solution d'un de ces protéides comme une phase unique. On peut dire que certains protéides appelés autrefois colloïdes lyophiles donnent des solutions vraies dans des milieux aqueux convenables, mais, en raison des grandes dimensions des particules dissoutes, ces solutions possèdent quelques propriétés des solutions colloïdales ordinaires.

Afin de faciliter la présentation de nos recherches, nous rappelons brièvement quelques propriétés des protéides. Nous exposons quelques hypothèses sur la structure des protéides, entre autres celle de SÖRENSEN où ces composés sont considérés comme des mélanges de complexes réversiblement dissociables en un certain nombre de composants définis. Nous passons en revue les propriétés des protéides en solution (poids moléculaires, caractère ampholyte). Ensuite nous résumons les connaissances sur la solubilité des protéides, c'est-à-dire : 1^o la relation de COHN qui exprime la solubilité de ces composés en fonction de la concentration saline de leur solution. 2^o La séparation des protéides du sérum par la méthode de précipitation au sulfate d'ammoniaque. 3^o Les résultats des expériences où SÖRENSEN étudie, en fonction de l'abondance plus ou moins grande de la matière protéique mise en œuvre pour un poids donné d'un solvant défini, le partage qui se produit entre une solution et la fraction de protéide non dissoute. Nous pouvons alors développer une théorie approchée de la solubilité des protéides dans laquelle l'homéométrie des composants supposés définis des protéides joue un rôle essentiel. L'étude expérimentale que nous donnons a pour but de montrer le bien-fondé de la théorie proposée. Nos résultats apportent pour le cas de fractions de sérum-albumine et de sérum-pseudoglobuline de bœuf, une bonne vérification des conséquences de cette théorie. Ils conduisent à une généralisation de la formule de COHN, qui devient ainsi une application de la théorie de DEBYE et MC. AULAY, à la solubilité de mélanges de particules étroitement homéomères.

De plus il devient possible de dégager la structure intime des micelles (*) d'un protéide en faisant la synthèse de deux conceptions : conception physiologique et biochimique d'un noyau prosthétique central dans la molécule protéidique, conception physico-chimique du rôle fondamental de ce noyau défini et commun à toutes les micelles d'un protéide dans l'analogie de structure chimique qui correspond à l'homéométrie thermo-élastique. Nous considérons les micelles protéidiques comme étant constituées par un noyau central à peu près défini et par des chaînes latérales reliées au noyau grâce à des liaisons plus ou moins mobiles (suivant le protéide). Notre conception de la structure du noyau s'inspire du schéma de structure de la fibroïne de MEYER et MARK.

En dernier lieu nous avons fait une étude de la composition de diverses fractions de protéides du sérum.

(*) Nous employons le terme micelle pour désigner les particules protéidiques. Dans l'application présente, il s'applique à un édifice formé d'une seule unité qui est un véritable complexe.

La théorie de la structure des protéides que nous présentons, d'accord avec nombre de faits connus, nous semble avoir pour le biochimiste la valeur d'une féconde hypothèse de travail. Elle doit permettre d'aborder sous un jour nouveau bon nombre de questions concernant l'édification des albumines tissulaires au cours du développement, le mode de destruction des molécules protéidiques au cours de l'inanition, leur restitution lors du retour à l'équilibre azoté. Le noyau prosthétique central de ces molécules est le refuge probable des équilibres de forme et de fonction des cellules vivantes ; les chaînes latérales relativement labiles et dont certaines seraient en perpétuelle instabilité font participer la molécule albuminoïde aux divers métabolismes dont elle ne paraît indépendante que si l'on s'en tient à une observation superficielle.

CHAPITRE II

LA STRUCTURE DES PROTÉIDES A L'ÉTAT SOLIDE ET EN SOLUTION

I. ÉTUDE DE LA STRUCTURE DES CORPS A GROSSES MOLÉCULES PAR LES RAYONS X

Les travaux déjà anciens de FISCHER et HOFMEISTER ont révélé l'exactitude de la conception suivant laquelle les aminoacides constituant les protéides doivent être considérés comme reliés les uns aux autres par des liaisons peptidiques. En ce qui concerne la forme des édifices de poids moléculaires considérables résultant d'associations en proportions variées des 27 aminoacides actuellement connus et même d'autres constituants, l'étude des albumines comme celle de tous les corps à grosses molécules a bénéficié de l'application de l'examen aux rayons Röntgen.

En 1912, M. v. LAUE applique l'examen aux rayons X à de nombreuses substances cristallisées, suivi ensuite par W. L. BRAGG. Depuis lors les substances colloïdales ont révélé leur structure organisée et ont été étudiées par une foule de chercheurs.

Substances naturelles. — Un groupe de travaux qui nous intéresse ici tout particulièrement concerne la fibroïne de la soie ; il éclaire la question de la structure des protéides. R. O. HERZOG et W. JANCKE (⁴⁷, ⁴⁸) ont montré que la fibroïne ainsi d'ailleurs que divers autres protéides donne des interférences avec les rayons X. R. BRILL (¹⁹), étudiant les diagrammes de plus près, a pu distinguer deux types de soie, fait confirmé récemment par O. KRATKY et S. KURIYAMA (⁵⁹). Dans la fibre l'un des constituants est orienté suivant plusieurs directions, tandis que le ou les autres ne le sont que suivant l'axe. La périodicité est presque identique le long de l'axe de fibre pour les substances ainsi distinguées. A partir des données recueillies par HERZOG et ses collaborateurs, en se basant d'autre part sur la composition en acides aminés, K. H. MEYER et H. MARK (⁷⁴) construisent pour le constituant cristallin de la fibroïne un schéma de structure. Il existe une relation entre le volume de la maille élémentaire du réseau cristallin, volume qui se déduit des données du diagramme de rayons X, et le poids du motif périodique supposé unique qui se répète le long de l'axe. Parmi les différentes combinaisons résultant de la composition déterminée par ABDERHALDEN, MEYER et MARK n'en admettent donc qu'une où interviennent deux acides aminés, les deux seuls qui conviennent alors, la glycine et l'alanine. Dans leur schéma de maille élémentaire, 2 restes d'alanyl-glycine— CO — CH²

— NH — CO — CH (CH³) — NH — et deux restes de glycyl-alanine — NH — CH² — CO — NH — CH (CH³) — CO — sont disposés parallèlement à une direction commune (axe de fibre). Dans l'ensemble de la fibre formée de mailles successives, des restes glycyl et alanyl sont liés en longues chaînes de peptides parallèles à l'axe et ces chaînes sont associées latéralement pour former ce que les auteurs appellent une micelle ou cristallite. Ces micelles seraient maintenues ensemble par des substances servant de ciment dans la composition desquelles entreraient les autres acides aminés de la soie. Ces dernières substances arrangées en chaînes parallèles à l'axe ne seraient pas organisées dans d'autres directions,

Par une méthode analogue MEYER et MARK (⁷⁰, ⁷⁵, ⁷⁶) ont établi un schéma de structure pour la cellulose. La micelle cellulosique comprendrait 1.500 à 2.000 groupes glucose. Des chaînes de 30 à 50 groupes glucose liés entre eux par des liaisons glucosidiques (liaisons chimiques ordinaires) seraient combinées entre elles par des forces d'association analogues pour les auteurs à des liaisons de valences secondaires; 40 à 60 de ces chaînes constitueraient la micelle. Les premiers, MEYER et MARK affirment l'importance des modes de liaison chimiques dans les grosses molécules.

Pour toutes les substances protéiques, ces auteurs envisagent une structure analogue. Dans des protéides nettement cristallisés, comme serait le constituant étudié de la fibroïne, des chaînes polypeptidiques, formées de groupements simples liés entre eux par des liaisons peptidiques et se reproduisant périodiquement, seraient reliées entre elles par des valences secondaires. Dans les protéides amorphes, les chaînes peptidiques seraient formées de groupements simples différents entre eux et seraient de constitution variable de l'une à l'autre. Dans presque tous les protéides naturels MEYER et MARK admettent l'existence de Mischmizellen pouvant inclure, outre les chaînes peptidiques, des chaînes lipidiques. Ces dernières substances ne donneraient pas de diagrammes de rayons RÖNTGEN; mais des états de transition avec diagrammes flous ou compliqués s'expliqueraient par la présence d'un constituant orienté au sein d'une masse amorphe. Nous développerons une façon de voir plus précise.

Un grand nombre de chercheurs s'inspirant des idées de MEYER ont étudié de nombreuses substances. Nous citerons les travaux de HERZOG et GONELL (⁴⁶) sur le collagène, de KATZ et GERNGROSS (⁵⁶) et de J. J. TRILLAT (¹⁰⁵) sur la gélatine, d'ATSBURY et ses collaborateurs (⁶ et ⁷) sur le constituant cristallin de la laine et des poils, de CHAMPETIER sur la cellulose (²⁴). [Voir l'article de PAÏC (⁸⁰)].

Travaux effectués sur des corps synthétiques. — Un groupe important de travaux a été entrepris par STAUDINGER et son école. STAUDINGER (⁹⁴, ⁹⁵), étudie les produits de polymérisation de substances bien connues (formaldéhyde, acétate de vinyle, acide acrylique, styrolène, etc...). La conclusion de ces recherches est que les produits de polymérisation sont constitués par un plus ou moins grand nombre de molécules de substance monomère enchainées par des valences ordinaires de la chimie organique. Dans la transformation de

l'acide acétique en acide diacétique, STAUDINGER admet que l'enchainement peut se faire par des valences de coordination (ou valences secondaires de la théorie de WERNER). Il n'a pas la certitude d'avoir rencontré des substances à poids moléculaire élevé formées de cette façon : cependant dans ses récentes publications, il signale l'existence de produits d'association où des molécules seraient liées par des moments de dipôles ou par des forces intermoléculaires indéterminées.

Conclusions. — Réalisant une synthèse des conclusions souvent imprécises de MEYER et MARK et de STAUDINGER, SÖRENSEN (⁹², page 16) en fait application aux protéides. Les protéides solubles seraient constitués par une série de composants formés de groupes d'atomes unis par des valences principales (main valencies). Ces composants qui pourraient être même des lipides seraient réversiblement combinés au moyen de valences résiduelles (residual valencies) de nature complexe et essentiellement fragile.

Pour SÖRENSEN il n'y a pas possibilité de faire une distinction profonde entre un tel système (component system) et un simple mélange. C'est bien notre avis et nous montrerons qu'un protéide comme la sérum-albumine se comporte comme un mélange d'espèces homéomères entre elles. Il faut conclure pourtant que les protéides sont pour SÖRENSEN des mélanges de complexes ou d'agrégats mobiles réversiblement dissociables en composants définis de poids moléculaires relativement bas, la stabilité de ces composants étant toujours très supérieure à celle des édifices complexes.

K. H. MEYER, M. BERGMANN (¹¹) se rapprochent assez du point de vue de SÖRENSEN. MAX BERGMANN qui s'occupe d'ailleurs surtout des hydrates de carbone, considère les corps à grosses molécules comme formés de groupes dont chacun constituerait une individualité chimique, ces groupes étant reliés entre eux par des liaisons ou forces d'agrégation dont la nature est souvent indécise. Chaque groupe, qui dans la conception de BERGMANN peut varier de l'ion simple à une combinaison compliquée, correspond en somme à ce que SÖRENSEN appelle un composant (chainon polypeptidique). D'autres auteurs, comme R. O. HERZOG (⁴⁸), P. KARRER (⁵⁵), K. HESS (⁴⁹), estiment que les substances à poids moléculaire élevé sont formées d'unités relativement petites combinées en gros agrégats par des forces d'association intermoléculaires. La conception de STAUDINGER laisse une grande place au rôle des liaisons chimiques. Tous ces auteurs s'accordent pour admettre l'existence de constituants simples dont les éléments (atomes ou groupes d'atomes) sont reliés entre eux par des liaisons chimiques ordinaires, des valences principales de la chimie organique. Tandis que WALLIN, dans son livre, les appelle groupes individuels, SÖRENSEN leur donne le nom de motifs (motifs). Mais lorsqu'il s'agit du mode de liaison de ces motifs, les différents auteurs ne s'accordent pas. HILDEN, MEYER et MARK ont toute une série de termes qui sont destinés à manifester les liaisons entre les différents motifs. Dans les cas envisagés songer actuellement à la cohésion dans un solide et des liaisons de carac-

tère chimique mais particulièrement mobiles, par exemple des liaisons de valences secondaires comme celles que l'on suppose exister dans certains complexes minéraux instables et qui ont été introduites par WERNER. Pour tous les modes instables d'association qu'envisagent les différents auteurs et dont la nature chimique n'est ni évidente ni nécessairement exclusive, SÖRENSEN emploie le terme « valences résiduelles ». La question des modes de liaison qui interviennent dans l'édification des grosses molécules est donc toujours largement ouverte.

2° POIDS MOLÉCULAIRES DES PROTÉIDES

Nous allons résumer maintenant des travaux qui concernent plus particulièrement les protéides en solution. Nous commencerons par la détermination du poids moléculaire des protéides. Il s'agit de la grandeur moyenne des particules en solution, grandeur dont la mesure a donné lieu à des travaux importants. Les uns applicables seulement à des substances délinées s'appuient sur la composition en acides aminés (E.-J. COHN), d'autres plus sûrs sur des mesures de pression osmotique (ADAIR, SÖRENSEN, N.-F. BURK, BURK et GREENBERG), d'autres enfin sur l'équilibre et la vitesse de sédimentation par ultracentrifugation (SVEDBERG). Une série toute récente de travaux remarquables sur les protamines (FELIX et ses collaborateurs d'une part, WALDSCHMIDT-LEITZ, ZIEGLER, SCHÄFFNER et WEIL d'autre part) s'appuie sur la composition et quelquefois sur des résultats obtenus par ultracentrifugation. En ce qui concerne les protéides solubles connus, les recherches de SVEDBERG et des ses collaborateurs (⁸⁹, ⁹⁷ à ¹⁰³) sont les plus importantes. Deux méthodes qui permettent de déterminer directement le poids moléculaire des protéides ont été développées par cet auteur. La première est basée sur la mesure de la vitesse avec laquelle les molécules sont sédimentées lorsque la solution est exposée à un champ de gravitation très intense dans une centrifugeuse construite spécialement : la seconde permet le calcul du P. M. d'après la distribution des protéides dans la solution lorsque cette dernière est centrifugée à une vitesse telle qu'un équilibre intervient entre le déplacement des molécules sous l'influence de la gravitation et leur mouvement dû aux forces osmotiques (diffusion). La comparaison des résultats obtenus par ces deux techniques permet de se faire une idée de la forme et des dimensions des particules. Il y a dans ces travaux des analogies avec les expériences de MILLIKAN sur les émulsions dans l'air de gouttelettes d'huile électrisées et surtout avec certaines expériences de PERRIN sur des suspensions aqueuses de granules.

SVEDBERG pense que les molécules de divers protéides (ovalbumine, édésine, hémocyanine II, etc...), sont sphériques, mais les molécules des protéides du sérum en autres ne seraient pas exactement sphériques. Comme on le remarque d'après le tableau I les poids moléculaires des protéides étudiés par SVEDBERG et ses collaborateurs sont extrêmement voisins de multiples de 34.500.

TABLEAU I

Poids moléculaires de différents protéides

Protéide	P. M.	Facteur relatif au P. M.	Auteur
Ovalbumine	34.500	1,00	SVEDBERG
	34.000		SÖRENSEN
	33 à 34.000		E. J. COHN
	36.000		N. F. BURK
Albumine de Bence-Jones	35.000	1,01	SVEDBERG
Hémoglobine	68.000	1,97	SVEDBERG
Sérum-albumine	67.000	1,97	SVEDBERG
	62.000		G. S. ADAIR
	45.000		SÖRENSEN
Sérum-globuline	103.800	3,03	SVEDBERG
{ Euglobuline	174.000		} G. S. ADAIR
{ Pseudoglobuline	140.000		
Sérum-globuline	80 à 140.000		SÖRENSEN
Amandine	208.000	6,04	SVEDBERG
Edestine	208.000	6,04	SVEDBERG
L-Hémocyanine	2.000.000		SVEDBERG
H-Hémocyanine	5.000.000		SVEDBERG

Le cas de la caséine est particulier. La substance préparée selon HAMMARSTEN serait un mélange de molécules de grandeurs différentes. Une fraction préparée par extraction à l'alcool chlorhydrique de la caséine HAMMARSTEN, selon la technique de LINDERSTRÖM-LANG ⁽⁶⁵⁾, se présente comme homogène avec un P. M. de 375.000 (SVEDBERG, L. CARPENTER et D. CARPENTER) ⁽⁹⁸⁾.

Plus récemment, SVEDBERG et ses collaborateurs ont montré qu'à quelques rares exceptions près, un nombre considérable de protéides que l'on peut obtenir dans un état de pureté convenable, possèdent des P. M. qui sont entre eux comme des nombres entiers, chaque P. M. étant un multiple de 34.500. SVEDBERG a étendu ses observations à la façon dont se comportent les protéides dans des solutions de réaction éloignée du point isoélectrique. Il a montré que dans ces solutions les protéides sont plus ou moins complètement décomposés, en fragments dont les P. M. gardent entre eux des relations simples et cette décomposition dans quelques cas tout au moins, est réversible. Cette généralisation implique une organisation définie de la structure des micelles de nombreux protéides.

Les travaux récents de BURK et GREENBERG ⁽²¹⁾ sur la pression osmotique des protéides dans les solutions concentrées d'urée, ont montré que l'hémoglobine, la caséine étaient décomposées complètement en particules de P. M. voisins de 34.500. Le cas de l'édestine qui fournit par cette méthode un P. M. voisin de 50.000 peut correspondre à un équilibre entre des particules hétérogènes; aucun contrôle de cette possibilité n'a été fait et l'examen des solutions d'édestine dans l'urée au moyen de l'ultracentrifugation peut seul trancher la question (voir l'article de VICKERY, ⁽¹⁰⁹⁾)

Dissociation réversible de certains protéides en solutions diluées. — SÖRENSEN ⁽⁹⁰⁾, page 356) et ADAIR ⁽¹⁾ ont tenu compte des équilibres de DONNAN dans la mesure de la pression osmotique des protéides. La comparaison des résultats de SVEDBERG avec ceux de SÖRENSEN et de ADAIR a conduit SVEDBERG à penser que les substances obtenues selon les méthodes de SÖRENSEN avaient subi au cours de leur préparation des décompositions partielles. Il a montré que de telles décompositions se produisent pour la sérum albumine dans des solutions où la concentration est inférieure à 0,5 %. Dans une solution à 0,25 % étudiée par SVEDBERG et SJÖGREN ⁽¹⁰¹⁾, environ 29 % du protéide n'était pas centrifugeable. Par précipitation de la solution initiale au moyen de sulfate d'ammoniaque, SVEDBERG a pu isoler le produit de décomposition non centrifugeable en même temps que le reste. Cet ensemble redissous de manière à donner une solution plus concentrée (1,1 %) redevient complètement centrifugeable avec un poids moléculaire normal. Des scissions de la sérum-albumine en fragments de grandeur relativement petite peuvent donc être réversibles.

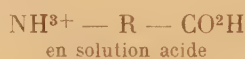
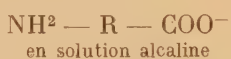
T. SVEDBERG et F.-F. HEYROTH ⁽⁹⁹⁾ ont constaté un fait du même ordre pour l'hémocyanine. De plus sur deux échantillons de sérum de cheval SVEDBERG et SJÖGREN montrent que l'ensemble des globulines obtenu après un traitement simple et rapide se comporte comme une substance homogène, tandis que de nombreuses précipitations et des dialyses de longue durée altèrent rapidement les mêmes échantillons, ce qui se manifeste par l'apparition de substances non centrifugeables. Le caractère réversible des transformations observées par SVEDBERG, dans le cas de la sérum-albumine, et d'autres protéides, montre bien que les protéides sont des mélanges de complexes, mobiles le plus souvent. Mais parmi les éléments dissociables qui constituent ces complexes en existe-t-il dont le rôle dans l'édifice soit essentiel, d'autres étant plus accessoires ? Y a-t-il quelque chose de défini dans ces complexes ? Il ne semble pas que les auteurs que nous venons de citer aient tenté de répondre à ces questions qui nous préoccupent ici-même.

3° CARACTÈRE AMPHOLYTE DES PROTÉIDES

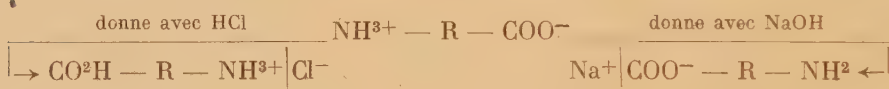
Nous allons rappeler ici des travaux qui concernent plus particulièrement le caractère ampholyte des protéides. Dès 1905, HARDY ⁽⁴³⁾, confirmé ensuite par H. CHICK ⁽²⁵⁾ exprima l'idée que les globulines existent en solution neutre sous la forme d'une combinaison avec les électrolytes du milieu. Plus tard, une étude de la composition de l'ovalbumine dans des solutions de sulfate d'ammoniaque de concentration et de pH variables a été faite par SÖRENSEN et ses collaborateurs, en application de la méthode de proportionnalité ⁽⁹⁰⁾, page 357) que nous décrivons dans la suite. A travers une membrane semi-perméable, cet auteur a réalisé dans des conditions variables l'équilibre de distribution du sulfate d'ammoniaque entre sa solution dans l'eau et une solution aqueuse d'ovalbumine. Il a montré que l'ovalbumine fixe de l'eau et du sulfate d'ammoniaque.

La quantité de sel fixée est toujours très petite et atteint une valeur maxima dès que la concentration en sel devient grande (plus de 5 grammes pour 100 grammes d'eau). La quantité d'eau fixée par l'ovalbumine atteint dans des solutions salines concentrées une valeur à peu près stable et voisine du tiers du poids de l'albumine anhydre.

Théorie des ions intermédiaires (BJERRUM). — L'explication de certains de ces résultats expérimentaux est devenue possible et cohérente depuis qu'on admet que divers protéides possèdent en solution la structure d'ions intermédiaires, appelés encore ions hybrides. C'est ADAMS⁽³⁾ qui en 1916, émit le premier l'hypothèse d'après laquelle les acides aminés donneraient des ions intermédiaires en solution. Mais c'est surtout BJERRUM⁽¹⁴⁾ qui dès 1923 a largement développé cette hypothèse et ses conséquences. Dans la théorie ancienne, on pouvait schématiser la structure d'un ampholyte de la manière suivante :



Dans la nouvelle théorie l'ion intermédiaire



Dans la théorie ancienne, l'addition d'un acide par exemple provoque l'ionisation des groupes basiques sous la forme de sels acides du groupe $-\text{N H}^2$. Dans la théorie de BJERRUM, il y a remplacement d'un acide faible ($-\text{COO}^-$) par un acide fort (Cl^-). C'est en se basant sur les forces d'acidité et de basicité des acides aminés qu'ADAMS puis BJERRUM ont été conduits à leur hypothèse. La nouvelle théorie rend mieux compte des valeurs que l'on trouve pour les constantes de dissociation des groupes acides et basiques des ampholytes que si on admet que ces corps se conduisent comme des acides ou comme des bases faibles. Dans cet ordre d'idées, toute une série de travaux permet cette conclusion que l'existence d'ions intermédiaires est prépondérante dans les solutions des acides aminés connus, de nombreux polypeptides, et de divers protéides (112, 57, 58, 18, 87, 77, 2, 45, 13).

Dans la théorie de BJERRUM, le point isoélectrique est caractérisé par une ionisation égale et non pas nulle de l'ensemble des groupes positifs et de l'ensemble des groupes négatifs. Pour un aminodiacyde ou pour un acide diaminé, si l'on considère en moyenne par particule la somme des modules des charges ioniques, ce point ne correspond pas à l'ionisation maxima. On peut ainsi définir pour un ampholyte un « point de charge maxima » ou pH auquel la particule de substance en solution porterait le plus grand nombre de charges ioniques.

La théorie des ions intermédiaires permet de considérer la combinaison des sels neutres avec les protéides au point isoélectrique comme le résultat de

la combinaison de l'ion intermédiaire de protéide avec des quantités équivalentes des ions du sel. Cette interprétation des résultats de HARDY, de CHICK et de SÖRENSEN est des plus satisfaisantes.

A l'heure actuelle, on ne connaît pas la nature intime de l'hydratation vraie des protéides, c'est-à-dire d'une combinaison éventuelle de l'eau avec les protéides, comme celle que les expériences déjà citées de SÖRENSEN sur les solutions d'ovalbumine ont mise en évidence. PAULI ⁽⁸²⁾ considère les protéides en solution comme des ions intermédiaires polyvalents ; les charges ioniques seraient hydratées et cette hydratation expliquerait le caractère lyophile des protéides et la stabilité de leurs solutions. Un élève de WEBER, H. VERSMOLD ⁽¹⁰⁸⁾ a montré que l'hydratation de l'ovalbumine ne varie pas sensiblement entre $pH 3,11$ et $pH 10,25$. Il considère ses résultats comme un argument en faveur de l'indépendance de l'hydratation de l'albumine et de son ionisation. Cependant, la somme des modules des charges ioniques d'un ion intermédiaire polyvalent peut ne pas varier considérablement dans une zone large autour de son point de charge maxima.

CHAPITRE III

LA SOLUBILITÉ DES PROTÉIDES

Après avoir rappelé brièvement quelques propriétés très générales des protéides auxquelles nous ferons appel à tout moment dans la discussion et l'interprétation de nos résultats, nous allons nous occuper de la question qui forme le sujet de ce travail, la solubilité des protéides. Nous allons résumer l'essentiel de recherches qui se rapportent à la solubilité des protéides dans les solutions salines, surtout dans des solutions concentrées, puis nous décrirons une application de ces connaissances, la séparation des protéides du sérum selon SÖRENSEN telle que nous l'appliquons dans ce travail. Ensuite nous exposerons les résultats d'une série de travaux de SÖRENSEN où cet auteur étudie l'influence de la quantité de protéide mise au contact d'une quantité donnée d'une solution saline sur la solubilité globale du protéide. Nous trouverons dans ces derniers résultats le point de départ de la conception que nous allons soutenir ensuite.

1° SOLUBILITÉ DANS DES SOLUTIONS DE CONCENTRATION SALINE VARIABLE

Les travaux qui concernent la solubilité des protéides dans les solutions salines se rapportent en grande partie au phénomène général de la précipitation par les sels (salting out).

Dès 1850, des chercheurs ont employé la précipitation saline des protéides : BERNARD ⁽¹²⁾ en France, PANUM ⁽⁸¹⁾ puis VIRCHOW ⁽¹¹⁰⁾ en Allemagne. En 1887 HOFMEISTER ⁽⁵¹⁾ montre que le phénomène dépend du caractère du sel neutre autant que de la nature du protéide. En 1905, MELLANBY ⁽⁷²⁾ montre que « la dissolution d'une globuline est due à des forces exercées par les ions libres du sel neutre, la puissance d'un ion étant directement proportionnelle au carré de sa valence ». En 1913, CHICK et MARTIN ⁽²⁷⁾ déterminent expérimentalement la solubilité de l'ovalbumine dans des solutions concentrées de sulfate d'ammoniaque ; ces expériences ont été reprises en 1917 par SÖRENSEN et HOYRUP ⁽⁴⁰⁾, page 164) qui ont tenu compte de l'hydratation des précipités d'ovalbumine.

En 1923, dans leur théorie des électrolytes, DEBYE et HÜCKEL ⁽³³⁾ font intervenir les forces électriques qui agissent entre les charges des ions et calculent les coefficients d'activité de ces ions. Poursuivant le développement de cette théorie, DEBYE et Mc AULAY ⁽³²⁾ étudient les effets des sels neutres sur les coefficients d'activité de non électrolytes et aboutissent pour des solutions concentrées à la relation :

$$\log f = K_s \cdot C_e \cdot$$

où K_s est une constante caractéristique du sel dans l'expression de laquelle interviennent le rayon moyen des ions, la somme des carrés de leurs valences, la constante diélectrique du solvant : l'eau. C_s est la concentration moléculaire du sel neutre.

La même année en se basant sur les résultats corrigés de CHICK et MARTIN et ceux de SÖRENSEN et HOYRUP, E. J. COHN ⁽²⁸⁾ formule une loi de la solubilité d'un protéide en solutions salines concentrées

$$\log s = \alpha \cdot m + \beta$$

où s est la solubilité du protéide en grammes par litre, m la concentration moléculaire du sel neutre, α une constante, le coefficient β une fonction de la concentration des ions hydrogène.

LINDERSTRÖM-LANG ⁽⁶⁴⁾ emploie une équation identique pour exprimer les effets des sels neutres sur le potentiel de l'électrode quinone-hydroquinone, il montre que le logarithme de la solubilité des acides faibles est inversement proportionnel à la concentration en sel neutre. En 1893, SETSCHENOW ⁽⁸⁸⁾ avait montré que la solubilité des gaz varie en fonction de la concentration saline suivant une exponentielle. COHN pense donc que l'action précipitante des sels neutres sur les protéides est un phénomène dû aux actions entre les ions du sel et les particules protéiques. Il voit dans les différences de grosseur qui existent entre des particules appartenant à des protéides différents une explication partielle du fait que ces protéides précipitent pour des concentrations salines très différentes, fait qui trouve application dans la séparation des protéides du sérum. Il rappelle la manière de voir formulée en 1917 par SÖRENSEN d'après laquelle la solubilité d'un électrolyte monovalent serait une mesure du coefficient d'activité de ses ions : $\gamma = \frac{a}{m}$. A température constante, l'activité en solution des

ions de l'électrolyte a est fixée par l'activité dans le solide. La valeur du coefficient d'activité est donc inversement proportionnelle à la solubilité m . Ce raisonnement, généralisé depuis, justifie théoriquement l'application de COHN.

La vérification expérimentale de cette loi a été tentée dans plusieurs travaux. SÖRENSEN et ses collaborateurs ont montré que pour l'ovalbumine, les résultats expérimentaux pouvaient être représentés par la formule suivante, dérivée de celle de COHN :

$$\log s = -0,22 \cdot S + 5,41 + 1,7 (pH - 4,90) \cdot$$

où S désigne le poids de sulfate d'ammoniaque contenu dans la solution pour 100 grammes d'eau libre ; s le poids d'hydrate d'albumine dissoute % d'eau libre. Mais, lorsqu'il étudie diverses fractions de sérum-albumine, SÖRENSEN ⁽⁹²⁾, page 64) ne peut représenter la variation de $\log s$ en fonction de S par une formule générale. A un pH donné, les droites qu'il obtient pour diverses fractions ne sont pas parallèles. A divers pH , il n'obtient pas des droites parallèles pour une même fraction. Pour nous ce phénomène se rapporte à l'hétérogénéité de la sérum-albumine et nous proposerons dans la suite un procédé qui permet

de tourner la difficulté. GREEN ⁽⁴¹⁾ observe pour la solubilité de l'hémoglobine dans des solutions concentrées de sels neutres un accord assez peu satisfaisant avec la relation de COHN.

2° LA SÉPARATION DES PROTÉIDES DU SÉRUM

Nous pouvons diviser les méthodes employées dans ce but en trois groupes :

1° Celles qui sont basées sur la précipitation des protéides à des concentrations différentes en sels neutres.

2° Celles où l'on utilise les différences de solubilité des protéides dans des solutions privées de sels par dialyse et électrodialyse d'une part, par la méthode à l'acétone récemment proposée d'autre part (PIETTRE et VILA).

3° Les méthodes qui utilisent directement les écarts entre les grosseurs des particules de protéides différents, l'ultrafiltration et peut-être dans un avenir proche l'ultracentrifugation. Les perfectionnements techniques récents permettent d'espérer beaucoup de ces méthodes théoriquement défendables.

Séparation des protéides du sérum au moyen de la précipitation fractionnée dans des solutions de sulfate d'ammoniaque. — Nous avons utilisé cette méthode dans notre travail. Une revue critique des techniques qui utilisent la précipitation fractionnée des protéides dans les solutions de NaCl, de $MgSO_4$ de Na_2SO_4 se trouve dans le travail d'A. ADNOT ⁽⁴⁾. Ces différentes techniques donnent des résultats souvent peu comparables entre eux. Elles sont employées couramment dans les examens cliniques. Le but poursuivi dans ce travail étant l'obtention de fractions de protéides bien distincts, nous avons préféré la méthode au sulfate d'ammoniaque qui a été étudiée avec soin par SÖRENSEN et qui est aussi la plus employée.

La méthode de séparation des protéides du sérum par précipitations fractionnées dans des solutions salines commence à présenter un caractère systématique à partir des travaux d'HOFMEISTER ⁽¹¹⁾. Il sépare au moyen du sulfate d'ammoniaque sérine et globuline. Par demi-saturation au sulfate d'ammoniaque les globulines précipitent. En 1898, F. HOPKINS et S. N. PINKUS ⁽⁵²⁾ en acidifiant le filtrat demi-saturé de sulfate d'ammoniaque obtiennent la sérum-albumine à l'état cristallisé et ceci pour plusieurs espèces animales. Il faut cependant attendre les travaux de SÖRENSEN pour voir cette méthode réaliser des progrès. Cet auteur fait cristalliser les albumines dans des solutions amenées au voisinage de leur point isoélectrique en pratiquant l'amorçage du milieu par un cristal. Au point isoélectrique les particules protéiques sont toutes en solution dans le même état. La syncrystallisation est donc parfaitement possible.

Nous allons décrire la technique qui permet d'obtenir la séparation de fractions appartenant à des protéides distincts, telle que la présente SÖRENSEN ^(91, 92).

Dans l'exposé des techniques de SÖRENSEN, nous emploierons la notation

conventionnelle de cet auteur. Lorsqu'on ajoute n volumes de solution saturée de sulfate d'ammoniaque à un volume d'une solution de protéides dans l'eau pure, on réalise un milieu de concentration $x = 100 \cdot \frac{n}{n+1}$.

x est donc le volume de solution saturée de sulfate d'ammoniaque donnant après dilution un volume 100 du milieu considéré, le pourcentage de solution saturée de sulfate d'ammoniaque dans le milieu. Les condensations possibles sont négligées dans cette manière simple de procéder, mais chaque fois que la concentration en protéide hydraté est importante dans la solution initiale, on doit en tenir compte dans le calcul du volume de la solution de SO^4Am^2 qui constitue le solvant de la substance protéique.

Un volume de sérum (ou de solution des protéides délipidés totaux neutralisée) est additionné d'un volume de solution neutre de SO^4Am^2 ; le précipité est séparé, puis repris par de l'eau. La solution obtenue est amenée par addition de solution saturée de SO^4Am^2 à la teneur de « 45 ». Le précipité obtenu est à nouveau dissous dans l'eau et on répète la précipitation cette dernière fois à « 40 ». Le précipité ne contient plus alors de sérum-albumine. On le redissout dans l'eau et le dialyse à la glacière. Finalement, on acidule légèrement le mélange obtenu tant qu'il se forme un précipité. Ce précipité redissous dans une solution de NaCl M/10 donne la solution mère qui servira à la préparation de l'euglobuline. L'eau mère contient des pseudo-globulines et subira de nouveaux fractionnements.

1° L'euglobuline est définitivement précipitée par dilution de sa solution mère dans 9 volumes d'eau (NaCl M/100). Le précipité est lavé par suspension dans NaCl M/100, puis redissous dans NaCl M/10. Ce traitement permet d'obtenir une euglobuline pauvre en pseudoglobuline. Un traitement plus poussé provoque la production de substances extrêmement peu solubles et SÖRENSEN admet que ce phénomène peut provenir d'une dénaturation éventuelle. Nous pensons que cela peut être au moins en partie la conséquence du fractionnement d'une substance fortement hétérogène.

2° La solution des pseudo-globulines au moyen de précipitations fractionnées à des concentrations en SO^4Am^2 variables et comprises entre « 28 » et « 45 » permet de préparer des fractions de pseudoglobuline de solubilités différentes.

3° De la solution à 50 (filtrat initial des globulines) lorsqu'on acidule de manière à réaliser un pH 4,7 — 4,8 précipite la sérum-albumine (souvent cristallisée dans le cas du sérum de cheval). Il suffit au fur et à mesure de la précipitation d'ajouter progressivement de la solution saturée de SO^4Am^2 de manière à atteindre la concentration finale 60. La sérum-albumine ainsi précipitée est apte à subir un fractionnement ultérieur. Dans le cas du sérum brut, lorsqu'on la redissout dans une petite quantité d'eau, on obtient une solution trouble de laquelle on peut séparer par filtration une substance d'un brun verdâtre riche en lipoides. Nous avons observé que la dialyse rapide de la solution de sérum-albumine de bœuf permet d'obtenir souvent une meilleure séparation de cette substance peu soluble et riche en lipoides. A ce sujet, nous avons étudié

la composition du constituant protidique de cette substance, afin de la comparer à celle du constituant protidique d'une préparation de gliode selon MACHE-BŒUF⁽⁶⁸⁾. A partir du filtrat clair obtenu soit directement soit après dialyse rapide, on peut effectuer des précipitations fractionnées de sérum-albumine, à des concentrations choisies entre les limites extrêmes « 40 » et « 60 », à pH 4,7 — 4,8. La sérum-albumine donne ainsi plusieurs fractions ayant des caractères de solubilité différents dans un même milieu, toutes conditions égales. Cette technique est dans l'ensemble celle à laquelle SÖRENSEN s'est récemment arrêté⁽⁹²⁾.

FISCHER et BLANKENSTEIN^(15, 37) se basant sur les résultats de BARRENSCHEEN et MESSINER⁽¹⁰⁾ préparent en faisant varier la concentration saline et la réaction du milieu trois fractions de sérum-albumine et quatre de globuline. Ces fractions ne se comportent pas comme des espèces chimiques définies. Elles proviennent du fractionnement d'un mélange et sont elles-mêmes des mélanges. LUSTIG et HAAS⁽⁶⁷⁾ obtiennent sur le sérum de bœuf onze fractions (trois de sérum-albumine et huit de globuline). Cette émulation ne paraît pas avoir abouti à la séparation d'une substance définie. L'intérêt de ces travaux réside dans l'étude de la composition des fractions.

En somme, la méthode au sulfate d'ammoniaque aboutit à la séparation des globulines d'une part et de la sérum-albumine de l'autre. Le fractionnement de ces groupes montre qu'il ne s'agit pas de substances homogènes, et l'obtention d'un composant défini, malgré de nombreux efforts, n'a pas encore été réalisée.

Autres méthodes de séparation. — Les méthodes par dialyse et électrodialyse se heurtent à de grosses difficultés techniques lorsqu'on veut éliminer les dernières traces d'électrolytes d'une solution de protéides. PAULI⁽⁸³⁾ considère qu'on peut ranger les protéides du sérum en deux groupes : ceux qui sont insolubles dans l'eau pure à leur point isoélectrique (eu-et pseudo-globulines) ceux qui sont solubles dans l'eau pure (sérum-albumine). Cette question n'est pas absolument résolue à l'heure actuelle et la comparaison du fractionnement obtenu par dialyse ou par la méthode de précipitation au SO_4Am^2 à 50, est l'objet de recherches intéressantes que poursuivent ETTISCH et SACHSSE⁽³⁴⁾.

SÖRENSEN a montré à maintes reprises que des fractions obtenues par sa méthode sur du sérum brut ont sensiblement les mêmes propriétés que celles qui proviennent de sérum délipidé. Nous aurions volontiers utilisé pour des recherches sur le sérum délipidé la méthode à l'acétone telle que la décrit PIETTRE et qui permet en même temps d'obtenir des fractions débarrassées d'électrolytes. La délipidation des protéides totaux, qui est le premier temps de cette technique, peut être réalisée correctement à 0° comme l'a montré VILA, si toutefois on prend certaines précautions⁽¹⁶⁾. Lorsqu'on tient à conserver aux protéides l'intégrité de leurs propriétés physico-chimiques, il est bon de se limiter à ce premier temps. La méthode à l'acétone ainsi réduite ressemble à d'autres méthodes de délipidation, comme celles qui utilisent la précipitation du sérum à basse température par l'alcool ou l'alcool-éther.

En 1910, HARDY et GARDINER ⁽⁴⁴⁾ ont jeté les bases d'une méthode de délipidation par l'alcool à -15° . Cette technique a été reprise en 1922 par E. G. YOUNG ⁽¹¹⁵⁾. Plus récemment L. F. HEWITT ⁽⁵⁰⁾ a mis au point une technique de délipidation qui utilise la précipitation à -15° par l'alcool-éther. Ces deux dernières techniques sont couramment employées par SÖRENSEN. Tout récemment GRABAR ⁽⁴⁰⁾ en application de la méthode de HEWITT a délipidé sans l'altérer de la sérum-albumine cristallisée. La comparaison *très approfondie* des protéides délipidés et des protéides naturels n'a pas été effectuée à l'heure actuelle. D'une telle étude pourtant dépend la solution de tous les problèmes posés par l'existence de chaînes lipidiques dans les micelles protéidiques (SÖRENSEN, MEYER et MARK).

3^o LA SOLUBILITÉ DES PROTÉIDES DANS DES SOLUTIONS DE SELS NEUTRES DE CONCENTRATION SALINE ET DE REACTION FIXÉES.

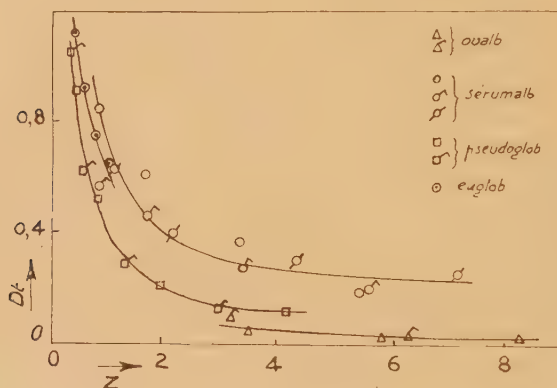
Les progrès considérables réalisés dans la connaissance de nombreuses propriétés des protéides ne permettent pas de rendre compte des particularités que l'on observe lorsque varie la quantité de protéide mise au contact d'une quantité donnée de solution saline. MELLANBY ⁽⁷²⁾ a montré que la solubilité d'une globuline dans une solution de concentration donnée d'un sel neutre est sensiblement proportionnelle à la quantité de protéide utilisée. Reprenant des expériences de CHICK et MARTIN ⁽²⁷⁾, SÖRENSEN ⁽⁹⁰⁾ montre que la solubilité de l'ovalbumine est presque indépendante de la quantité de protéide mise en œuvre pour une quantité donnée de solvant. Plus tard ⁽⁹¹⁾ il retrouve les résultats de MELLANBY et met en évidence le fractionnement qui accompagne la dissolution partielle d'une globuline, la partie dissoute s'enrichissant en produits plus solubles et le précipité se révélant moins soluble que le produit initial. SÖRENSEN croit cependant à l'impossibilité de réaliser une séparation de la globuline en deux ou plusieurs composants. Il admet en effet ^(92, page 17) que les globulines sont des combinaisons réversiblement dissociables, la composition d'une telle combinaison pouvant être exprimée par la formule $E_p P_q$ où E représente un composant euglobulinique, P un composant pseudoglobulinique. « Lorsqu'un tel précipité sera traité par une solution saline, le complexe non dissocié $E_q P_p$ et les produits de dissociation qui en résultent formeront probablement des combinaisons avec le sel ou ses ions. Ces combinaisons seront toutefois de solubilités très inégales et quand un précipité de globuline sera traité par une solution saline insuffisamment concentrée pour la dissoudre complètement, seuls les produits de dissociation les plus aisément solubles se dissoudront. Si une nouvelle quantité de globuline initiale est ajoutée, elle sera dissociée au moins en grande partie et les produits de dissociation les plus solubles seront à nouveau dissous ». Il semble que SÖRENSEN envisage une dissociation dans le précipité c'est-à-dire que ses complexes seraient comparables à des polymères des formes existant en solution.

SÖRENSEN a étudié divers protéides. Sur des fractions de protéides comme

la sérum-albumine, les globulines, l'ovalbumine même, il a montré que la solubilité dépend, toutes conditions égales, de la quantité de protéide utilisée pour une quantité donnée de solvant. Si l'on désigne par Z le poids d'hydrate de protéide mis en œuvre pour 100 grammes d'eau libre du solvant, s étant la solubilité de l'hydrate de protéide, on constate que s est une fonction croissante de Z . D'après les courbes qui représentent cette variation on peut calculer pour différentes valeurs de Z le quotient $\frac{\Delta s}{\Delta Z}$. Pour tenir compte de conditions expérimentales différentes, SÖRENSEN préfère utiliser la grandeur $Dt = \frac{\Delta s}{\Delta Z} \cdot \frac{1}{s_1}$,

s_1 étant la valeur de s pour $Z = 1$. Il conseille de toujours choisir les conditions expérimentales de manière à obtenir une valeur de s_1 voisine de 0,5 : dans ces conditions, il estime que l'expérience renseigne aussi bien sur les composants peu solubles que sur les composants solubles du protéide. Nous reproduisons les courbes de SÖRENSEN qui montrent les variations de la « dissociation tendency » Dt en fonction de Z pour divers protéides (⁹², page 83).

*La "dissociation tendency" des protéides solubles
(d'après Sørensen)*



Courbes I

D'après ces courbes, pour une certaine valeur de Z , la valeur de Dt est à peu près définie pour un protéide donné et varie beaucoup d'un protéide à l'autre. Pour un protéide les valeurs de Dt deviennent grandes lorsque Z est inférieur à 1. SÖRENSEN interprète ce dernier résultat en admettant que l'effet de la dissociation réversible qu'il suppose se produire dans les protéides devient important lorsque la dilution de la solution est grande. Il remarque que les grandes valeurs de Dt ont lieu pour des valeurs de Z qui sont du même ordre de grandeur que les concentrations en sérum-albumine pour lesquelles SVENBERG (¹⁰¹) a constaté la production de substance non centrifugeable. Il en conclut que des protéides comme l'ovalbumine sont peu dissociables mais que les protéides du sérum le sont émi-

nemment. Nous verrons que nos recherches personnelles nous ont conduit à une interprétation différente des résultats de SÖRENSEN. Tandis que les expériences de SVEDBERG et SJÖGREN montrent l'existence de produits de dissociation des protéides en solutions diluées, les conditions arbitraires choisies pour les expériences de SÖRENSEN ne lui permettent de conclure avec certitude qu'à l'hétérogénéité des protéides. Nous discuterons ceci en détail au moyen de nos résultats personnels.

SÖRENSEN (⁹², page 71) a montré que l'on peut obtenir à partir de sérum-albumine de cheval, par cristallisations partielles dans des solutions de sulfate d'ammoniaque, des fractions dont les solubilités étaient très différentes et dont la composition en certains acides aminés variait de l'une à l'autre. Dans la dissolution partielle d'une fraction d'un protéide du sérum, BLANKENSTEIN et FISCHER ont toujours mis en évidence une différence de composition nette entre l'insoluble et la partie dissoute. On doit considérer la sérum-albumine comme un système hétérogène. SÖRENSEN fait toujours cristalliser une première fois en commun les fractions de sérum-albumine qu'il obtient d'un même sérum. Il n'a jamais signalé d'hétérogénéité dans la structure cristalline de l'ensemble. Nous pouvons regarder ce protéide comme un mélange d'espèces homéomères entre elles. Ainsi, la difficulté insurmontée à ce jour de séparer par un procédé quelconque une fraction qui soit une espèce chimique ou un complexe défini, la continuité des propriétés des fractions obtenues sont en partie causées par le fait que les protéides en question sont des mélanges de particules qui, bien qu'elles présentent entre elles de nombreuses analogies dans tous les domaines, n'ont pas la même composition et ne présentent pas identiquement les mêmes propriétés. Les particules qui constituent un tel mélange peuvent former des phases solides ou mésomorphes communes c'est-à-dire des cristaux mixtes, des solutions solides ou des mélanges homogènes d'états intermédiaires entre l'état solide et l'état liquide. C'est cette manière de voir que nous allons maintenant appliquer et justifier.

4^o LA SOLUBILITÉ D'UN MÉLANGE DE SUBSTANCES ÉTROITEMENT HOMÉOMÈRES ENTRE ELLES.

Distribution d'un mélange de substances homéomères entre elles entre un précipité solide et une solution en application de la loi de partage. — Supposons qu'un mélange A, existant à l'état solide, soit formé par des particules monomères des composants définis 1, 2, n, homéomères entre eux au sens de la définition de URBAIN. Nous supposons connaître les propriétés individuelles de tous ces composants. Si nous mettons le mélange A au contact d'un solvant en quantité insuffisante pour tout dissoudre, une répartition des composants se produira entre deux phases, d'une part la solution et de l'autre des cristaux mixtes ou une solution solide des composants homéomères. Nous admettons qu'il ne se produit pas de réactions entre A et le solvant, que les particules dissoutes ont même degré de polymérisation que les particules solides ;

en contact. Nous pouvons alors tenter d'appliquer à la distribution d'un composant entre les deux phases la loi de partage (voir NERNST ⁽⁷⁹⁾). Cette loi, généralisation de la loi de HENRY, exprime que dans la distribution d'une espèce définie de molécules entre deux phases, le rapport des concentrations de l'espèce dans les solvants considérés est un nombre constant caractéristique de cette espèce et des solvants utilisés. Ce nombre est connu sous le nom de coefficient de partage.

Il existe une démonstration thermodynamique de cette loi ⁽⁸³⁾. On lui donne souvent la représentation cinétique suivante. A l'équilibre, le nombre des molécules qui passent d'une phase dans l'autre, doit être compensé par un nombre égal de molécules passant en sens inverse. Pour une surface de contact déterminée, le nombre des passages dans un sens est proportionnel, en solutions diluées, à la concentration de l'espèce de molécules considérée dans la phase émissive.

Dans le cas d'une solution saturée d'une espèce, le solide fonctionne comme une phase à concentration fixe et le coefficient de partage solution/solide est égal à la solubilité de l'espèce. Nous citerons maintenant deux vérifications expérimentales classiques de cette loi, à propos de cristaux mixtes :

1° Le travail ancien de FOCK ⁽³⁸⁾ sur les cristaux mixtes de nitrate de thallium et de nitrate de potassium. (les résultats de cet auteur montrent qu'il existe un coefficient de partage ayant une valeur constante pour des concentrations de NO^3TI variables dans les deux phases. La concentration de NO^3K dans la solution a été choisie très grande).

2° Les expériences de VANT'HOFF ⁽¹⁰⁷⁾ sur des cristaux mixtes de benzine et d'iode (existence d'un coefficient de partage constant pour l'iode entre une solution liquide et une solution solide).

Pour l'étude du cas qui nous intéresse, nous admettons que dans la distribution d'un composant du mélange A entre deux phases, on peut définir un coefficient de partage dépendant de la nature des deux phases et de celle du composant considéré, mais quelques précisions sont nécessaires.

Dans l'étude présente, nous supposons une homéomérie très étroite entre les composants du mélange A, telle que le milieu solide formé par ces corps et qui ressemble à un milieu homogène ait en tant que milieu physique des propriétés qui dépendent peu de sa composition. Étant donnée l'application visée, nous admettons que les composants du mélange A ont même poids moléculaire donc même volume spécifique. Aussi nous choisissons pour exprimer la concentration du composant i dans le solide le poids de substance i contenu dans 1 gramme de solide, c'est-à-dire une concentration relative du composant i dans le solide. Pour un composant quelconque d'un cristal mixte ordinaire, en utilisant alors dans ce cas les concentrations moléculaires, la valeur du coefficient de partage entre solution et solide dépend généralement de la composition de la phase solide et ceci à cause de l'homéomérie imparfaite des substances habituellement considérées. Mais, lorsque cette valeur est indépendante de la composition du solide, cela veut dire que la fugacité d'un composant quelconque ne dépend que de sa concentration relative dans le solide, et lui est proportionnelle. La concentration moléculaire globale est constante en vertu de

l'homéométrie thermo-élastique. Une analogie de propriétés nécessairement très étroite existe entre les composants d'un tel système dont un exemple semble fourni par les isotopes d'un corps simple.

Pour le système A nous admettons que le coefficient de partage ne dépend (approximativement) que du milieu solvant. Par suite de nos conventions il est égal à la solubilité de l'espèce dans le solvant choisi. Pour 100 grammes de solvant, désignons par z_i la masse de composant i présente dans les deux phases, $Z = \sum z_i$ étant la masse du mélange A correspondante. Appelons c_i la concentration relative du composant i dans le solide ($\sum c_i = 1$), P la masse de substance présente à l'état solide. Désignons par q_i la concentration de la solution en composant i exprimée en grammes pour 100 grammes de solvant ; $S = \sum q_i$ représente la quantité de substance dissoute dans 100 grammes de solvant.

Dans le mélange des deux phases, exprimons que la substance i est partagée entre solide et solution :

$$(I) \quad q_i + P \cdot c_i = z_i.$$

Une seconde relation exprime la loi de partage :

$$(II) \quad q_i = k_i \cdot c_i$$

k_i est le coefficient de partage relatif à l'espèce i . Lorsque le système A est uniquement constitué par des molécules i , k_i se montre égal à la solubilité de cette espèce.

La combinaison de (I) et de (II) donne successivement :

$$c_i = \frac{z_i}{P + k_i} \quad q_i = \frac{k_i \cdot z_i}{P + k_i}$$

Nous considérons la composition du système A étudié comme invariable, dès lors, nous pouvons poser :

$$\frac{z_i}{Z} = a_i \quad \sum a_i = 1.$$

En exprimant que $\sum q_i = S$, il vient :

$$\begin{aligned} S &= \sum \frac{k_i \cdot a_i}{P + k_i} \cdot Z, & \text{comme } P &= Z - S, \\ S &= Z \cdot \sum \frac{k_i \cdot a_i}{Z - S + k_i}. \end{aligned} \quad (III)$$

Exprimons que $\sum c_i = 1$, nous obtenons :

$$\frac{1}{Z} = \sum \frac{a_i}{Z - S + k_i} \quad (IV)$$

Les relations (III) et (IV) sont équivalentes. Pour le système A, la composition du précipité a une influence négligeable sur les valeurs des k_i , c'est-à-dire que les k_i sont approximativement indépendants de Z . D'autre part les conditions d'application de la loi de partage nous imposent de ne considérer que de

petites valeurs pour S . Deux formes implicites équivalentes sont les expressions de la dérivée de la fonction S :

$$\frac{\partial S}{\partial Z} = 1 - \frac{\sum \frac{a_i \cdot k_i (S - k_i)}{(Z - S + k_i)^2}}{\sum \frac{a_i \cdot k_i \cdot Z}{(Z - S + k_i)^2}} = \frac{N_1}{D_1} \quad (\text{III}')$$

$$\frac{\partial S}{\partial Z} = \frac{\sum \frac{a_i (S - k_i)}{(Z - S + k_i)^2}}{\sum \frac{a_i Z}{(Z - S + k_i)^2}} = \frac{N_2}{D_2} \quad (\text{IV}')$$

$$D_1 - N_1 = 1 - \frac{S}{Z} \quad D_2 - N_2 = \frac{1}{Z}$$

Dans les conditions particulières du problème (a_i et k_i positifs) on peut démontrer que la dérivée $S'_{(z)}$ est nulle lorsque Z croît au-delà de toute limite. S admet alors la limite :

$$S_{\text{lim}} = \sum a_i \cdot k_i \quad (\text{V})$$

La solubilité limite d'un mélange d'espèces étroitement homéomères entre elles est une moyenne simple des solubilités des espèces composantes, comprise entre leurs valeurs extrêmes.

Un cas particulier intéressant est l'apparition de la phase précipitée, lorsqu'on fait croître Z jusqu'à une valeur suffisante. A ce moment, on a

$$S_0 = Z_0 = \frac{1}{\sum \frac{a_i}{k_i}} \quad (\text{VI})$$

La valeur correspondante de la dérivée est :

$$S'_{(Z_0)} = 1 - \frac{\left(\sum \frac{a_i}{k_i}\right)^2}{\sum \frac{a_i}{k_i^2}}$$

Cette dernière expression peut prendre une valeur très différente de 1 (limite supérieure de S') par exemple lorsque le système A est un mélange de composants peu nombreux et dont les k_i sont relativement voisins.

D'autre part, l'étude de la grandeur q_i présente un certain intérêt :

$$q_i = Z \cdot \frac{a_i \cdot k_i}{Z - S + k_i}$$

lorsque Z croît au-delà de toute limite q_i tend vers une limite :

$$(q_i)_{\text{lim.}} = a_i \cdot k_i$$

d'où :

$$\frac{q_i}{(q_i)_{\text{lim.}}} = \frac{Z}{Z - S + k_i}$$

On voit que ce rapport prend, pour une valeur donnée de Z , des valeurs différentes lorsque i prend les valeurs successives 1, 2, 3, ... n . La composition de la fraction dissoute varie donc en fonction de Z . La fraction précipitée présente le phénomène complémentaire. L'exemple concret d'un système de ce genre dont la composition serait connue ainsi que les propriétés particulières de ses composants, peut seul permettre un développement et une application pratique du mode de calcul précédent. Cependant, la manière présente d'envisager la solubilité de certains systèmes hétérogènes permet dans le cas de protéides connus, de rendre compte avec une clarté suffisante de divers caractères de leur solubilité.

Application aux protéides solubles. — *Polymérisation possible des micelles à l'état solide.* Il importe de tenir compte d'abord de la polymérisation possible à l'état solide. On admet quelquefois que les substances protéiques solides sont formées de particules polymères de celles qu'on rencontre en solution. En réalité on n'en sait rien. Les solutions de protéides contiennent des formes complexes de P. M. à peu près déterminé et lorsqu'elles sont très diluées des éléments dissociés de ces formes. Nous voulons nous occuper brièvement du cas où le solide serait formé de polymères des formes complexes existant en solution et que nous considérons comme formes monomères. Quand une polymérisation a lieu **à l'état solide**, on peut envisager deux possibilités limites. Lorsque les formes d'association peuvent renfermer indifféremment les divers composants monomères, les molécules monomères libres sont dans les mêmes proportions réciproques que si la polymérisation n'avait pas lieu. Le second cas limite est celui où la polymérisation ne peut se produire qu'entre molécules monomères identiques. Dans la pratique on peut rencontrer des systèmes où l'association se réalise de préférence entre molécules identiques sans que pour cela des molécules différentes ne puissent s'unir entre elles.

Désignons par P_i la masse des molécules monomères i engagées dans des combinaisons polymères pour 1 gramme de précipité, par M_i la masse des molécules monomères i libres. L'équilibre entre ces formes s'exprime d'une manière relativement simple dans chacun des deux cas limites. Dans le premier cas :

$$\frac{M_i}{P_i + M_i} = b \quad \text{ou} \quad M_i = b \cdot c_i$$

b , étant un facteur commun à tous les composants du mélange. Dans le second cas limite :

$$M_i = f_i(P_i) = g_i(P_i^* + M_i) = g_i(c_i).$$

C'est cette valeur qui interviendrait à la place de c_i dans le calcul précédent remanié. Sauf quelques possibilités de simplification dans des cas définis, il semble qu'on doive aboutir à des calculs fastidieux le plus souvent. Dans le premier cas limite seulement, nous pouvons conserver le calcul précédent en attribuant à k_i un sens modifié. La polymérisation des particules à l'état solide rend donc généralement le calcul précédent inapplicable.

Dissociation réversible des micelles protéiques. — Un phénomène qui en solution est le pendant de celui que nous venons de voir brièvement est la dissociation réversible des particules protéiques en édifices moléculaires beaucoup plus petits. Cette dissociation a été montrée par SVEDBERG dans l'exemple de la sérum-albumine pour des solutions très diluées de protéide (*). Selon la conception de SÖRENSEN, les produits de dissociation pourraient être très différents entre eux. Dans les équilibres complexes auxquels ce phénomène peut donner naissance, le jeu des affinités réciproques entre les éléments dissociés, doit être important. Certaines particules peuvent être plus aisément dissociables que d'autres et lorsque changent les conditions de milieu, des regroupements nouveaux sont possibles. A l'heure actuelle, cette question est très obscure. On peut penser que la dissociation intéresse surtout des constituants latéraux des micelles protéidiques. Quoi qu'il en soit, la solubilité devrait être différente de celle que l'on observerait s'il n'y avait pas de dissociation.

De nouvelles complications se présentent lorsque, dans une phase, les molécules d'un composant se trouvent engagées dans une réaction et ne se présentent pas *sous une forme unique*. Cela ne paraît pas avoir lieu pour l'ovalbumine ou pour la sérum-albumine dans des solutions de sulfate d'ammoniaque concentrées, vers le point isoélectrique du protéide. Comme nous le verrons, la détermination de l'hydratation de ces protéides montre qu'au delà d'une certaine concentration en sel la composition de l'hydrate est indépendante de la concentration saline. La composition du précipité est à ce point de vue la même que celle du protéide dissous. C'est à une combinaison définie d'hydrate de protéide avec les ions du sel neutre que nous avons affaire.

Le point de vue que nous venons de discuter ne se présente certes pas comme capable d'apporter une solution simple pour tout ce qui concerne la solubilité des protéides. Le point de vue de SÖRENSEN fait intervenir des dissociations réversibles en composants différents. Nous avons repris certaines expériences de solubilité de manière à pouvoir mettre en évidence l'influence possible de ces dissociations, puis nous avons réalisé des expériences nouvelles afin de voir si le calcul simple dont nous avons précisé les conditions d'application peut rendre compte approximativement des phénomènes que l'on observe avec la sérum-albumine.

(*) Une telle dissociation reste à démontrer dans les solutions salines concentrées au voisinage du point isoélectrique.

CHAPITRE IV

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LA SOLUBILITÉ DES PROTÉIDES DU SÉRUM DANS DES SOLUTIONS CONCENTRÉES DE SELS NEUTRES.

Le but principal de cette partie de notre travail est donc de mettre en évidence l'influence d'une dissociation possible des protéides sur leur solubilité globale. Le moyen mis en œuvre est l'étude de l'influence de la concentration en protéide dissous sur *l'allure* de la variation de solubilité en fonction de la quantité de protéide mise en présence d'une quantité donnée de solvant. Un travail préparatoire est nécessaire pour connaître l'hydratation des protéides choisis dans les conditions que l'on veut réaliser. Pour le conduire, nous avons utilisé la méthode de proportionnalité de SÖRENSEN (⁹⁰, page 39) que nous décrivons en suivant de près l'auteur.

Méthode de proportionnalité. — Lorsqu'on précipite une solution de protéide par le sulfate d'ammoniaque, si l'on sépare après une durée de contact suffisante des quantités pesées de précipité et de liqueur mère, on peut, au moyen de l'analyse, tirer certaines conclusions sur la composition de la substance insoluble en admettant toutefois que la liqueur qui adhère au précipité a même composition que le filtrat. Si le précipité humide contient de l'eau et du sulfate d'ammoniaque et dans le rapport même où ces substances se trouvent dans la liqueur mère, cela signifie que la matière protéique insoluble ne contient ni eau, ni SO^4Am^2 ou contient les deux dans la même proportion que dans la liqueur mère. Si le rapport des teneurs en eau et en SO^4Am^2 est différent dans la liqueur mère et dans le précipité humide, cela signifie que la substance insoluble contient selon le cas de l'eau ou du SO^4Am^2 , et peut-être en outre du SO^4Am^2 et de l'eau dans les mêmes proportions que dans le filtrat.

Dans le cas des protéides du sérum et de l'ovalbumine, l'analyse montre que les précipités contiennent des excès d'eau considérables. Dans son exposé, SÖRENSEN considère d'abord le cas où la substance insoluble ne contient que de l'eau. Supposons que le poids de :

l'azote ammoniacal dans 100 grammes de filtrat	soit de.....	a_f gramme
» » » »	précipité »	a_b »
» protéique » »	filtrat »	p_f »
» » » »	précipité »	p_b »

Appelons x le facteur par lequel on doit multiplier l'azote protéique pour avoir le poids total d'eau et de protéide contenus dans l'insoluble. On pourra écrire la composition de 100 grammes de filtrat :

$a_f \cdot 4,7163$	gr. SO^4Am^2
$p_f \cdot x$	gr. d'hydrate de protéide
$100 - a_f \cdot 4,7163 - p_f \cdot x$	gr. d'eau

100 grammes de précipité contiennent :

$a_b \cdot 4,7263$	gr. SO^4Am^2
$p_b \cdot x$	gr. d'hydrate d'albumine
$100 - a_b \cdot 4,7263 - p_b \cdot x$	gr. d'eau

Si l'on exprime que le rapport des teneurs en SO^4Am^2 et en eau est le même dans le filtrat et dans l'eau mère contenue dans le précipité humide, on en tire :

$$(1) \quad x = \frac{100(a_f - a_b)}{a_f \cdot p_b - a_b \cdot p_f}.$$

Cette formule n'est applicable qu'au cas où l'insoluble contient uniquement de l'eau.

Examinons maintenant le cas où, à côté de l'eau, la substance insoluble contient encore du SO^4Am^2 et de l'eau dans le rapport où ces corps se trouvent dans la liqueur mère. SÖRENSEN appelle y le facteur par lequel doit être multiplié l'azote protéique pour avoir le poids de SO^4Am^2 inclus dans la combinaison insoluble ; x garde la même signification que dans le cas précédent ; z sera le facteur par lequel on doit multiplier l'azote protéique pour avoir le poids total de la substance insoluble (combinaison du protéide avec l'eau et le sel). On a :

$$(2) \quad z = x + y.$$

Par application du principe de proportionnalité aux compositions nouvelles du filtrat et du précipité humide, on aboutit à la relation linéaire suivante entre z et y :

$$(3) \quad z = r + s \cdot y$$

où r et s sont deux coefficients qui ont les valeurs :

$$r = \frac{100 \cdot (a_f - a_b)}{a_f \cdot p_b - a_b \cdot p_f},$$

$$s = \frac{100 \cdot (p_b - p_f)}{4,7163 \cdot (a_f \cdot p_b - a_b \cdot p_f)}$$

3) est indéterminée et l'analyse permet seulement le calcul de r et s . Mais lorsque y est petit et que le terme $s \cdot y$ est un terme correctif de peu d'importance, on peut tenter une détermination approchée de z basée sur le procédé suivant.

Prenons l'exemple de deux expériences faites dans des conditions semblables mais présentant une petite différence dans les concentrations de SO^4Am^2 employées. Si ces deux expériences donnent des valeurs différentes aussi bien pour r que pour s , en supposant que z et y sont les mêmes dans l'une et l'autre expérience, nous avons :

$$z = r_1 + s_1 \cdot y = r_2 + s_2 \cdot y$$

d'où :

$$(4) \quad y = \frac{r_1 - r_2}{s_2 - s_1}.$$

De cette valeur approchée, on déduit celles de z et x .

Quand l'hydrate d'albumine ne se combine pas à des quantités équivalentes des deux constituants du SO^4Am^2 , ce qui se produit en dehors du point isoélectrique, on peut utiliser les formules précédentes à la condition de modifier légèrement le sens des facteurs r et s .

Au cours de ce travail, nous n'aurons pas à nous occuper de cette complication.

La méthode de proportionnalité est applicable à bien d'autres cas qu'à celui d'un précipité en équilibre avec son eau mère. Quand une solution de protéide et d'un sel neutre placée à l'intérieur d'une membrane semiperméable, se trouve en équilibre avec une solution du sel neutre placée à l'extérieur, l'analyse des deux solutions permet de connaître la composition moyenne des particules protéiques. Le calcul doit être conduit comme dans le cas d'un précipité humide en contact avec son eau mère. L'interprétation des résultats doit tenir compte d'une inégale répartition des ions de part et d'autre de la membrane, due à la présence d'une substance amphotère non dialysable d'un côté de cette membrane.

Application aux protéides du sérum. — Les expériences que nous allons maintenant décrire portent sur la sérum-albumine et la sérum-pseudoglobuline du sang de bœuf. Pour la préparation des fractions de protéides, nous avons utilisé les méthodes décrites par SÖRENSEN et que nous avons déjà exposées. Nous employons, d'autre part, une technique analogue à celle de SÖRENSEN (⁹⁰ page 48) pour la détermination de l'azote ammoniacal et de l'azote protéique dans un mélange composé d'eau, de sulfate d'ammoniaque et d'hydrate de protéide. Nous la décrivons dans la dernière partie.

Nous avons utilisé :

1^o une fraction de sérum-albumine obtenue après deux précipitations successives dans une solution de SO^4Am^2 à 58 (ce nombre désigne le pourcentage de volume de solution saturée de SO^4Am^2 qui entre dans la composition du mélange solvant réalisé). La solution de reprise était à 53. Le précipité final a servi à préparer les échantillons A, B et C;

2^o trois fractions F_1 , F_2 et F_3 de sérum-albumine dont la préparation est indiquée dans la suite;

3^o une fraction de pseudo-globuline obtenue par précipitations fractionnées entre 35 et 40 (comme pour la sérum-albumine). Elle a donné les échantillons A' et B'.

Les échantillons provenant d'une même fraction sont des mélanges d'hydrate de protéide, d'eau et de sulfate d'ammoniaque variables au point de vue de la concentration de la phase dispersée en SO^4Am^2 et en ions H^+ . Pour chaque échantillon, nous avons déterminé les teneurs en azote ammoniacal et en azote

protéique: 1° de la solution que l'on obtient en centrifugeant le mélange et 2° du précipité imbibé de liqueur mère correspondant. Ces analyses ont permis de calculer le facteur r . Les résultats sont portés sur le tableau II.

TABLEAU II
Détermination du facteur r

$t = 19^{\circ}$	Précipité		Solution claire		r	teneur en SO^4Am^2 = S % d'eau	pH
	$\text{N}_{\text{amm}} \%$	N_{prot}	$\text{N}_{\text{amm}} \%$	N_{prot}			
Sérum albumine :							
Mélange A.....	3,957	2,575	4,72	0,725	8,23	31,05	4,83
» C.....	4,67	2,007	5,58	0,071	8,36	36,0	4,86
» B.....	4,29	2,306	5,19	0,2474	8,26	33,3	4,805
Fraction F ₁	4,65	2,338	5,765	0,00	8,27	37,4	4,33
» F ₂	5,31	1,135	5,875	0,00	8,47	38,35	4,44
» F ₃	4,90	2,025	5,89	0,00	8,30	38,5	4,51
» F ₁	4,36	2,726	5,61	0,0233	8,21	36,1	4,675
» F ₂	4,41	2,599	5,60	0,050	8,31	36,15	4,685
» F ₃	4,617	2,128	5,586	0,0893	8,43	36,05	4,675
Moyenne.....					8,31		
Sérum pseudo-globuline							
Mélange A'.....	2,717	2,68	3,375	0,54	8,68	20,05	4,81
» B'.....	2,847	3,183	3,922	0,104	8,82	22,95	4,82
» C'.....	2,767	3,40	3,89	0,118	8,71	22,7	4,60
Moyenne.....					8,74		

Ces résultats montrent que r est constant dans les conditions de nos expériences, les différences que nous observons sont de l'ordre des erreurs expérimentales possibles. Les travaux de SÖRENSEN et de ses collaborateurs⁹⁰, page 357) sur l'ovalbumine, ont démontré qu'une petite quantité de sulfate d'ammoniaque était fixée sur la particule protéique. Cette quantité croît d'abord avec la concentration en SO^4Am^2 puis devient constante pour des concentrations élevées ; r ne représente donc pas l'hydratation exacte. Mais les quantités de SO^4Am^2 fixées sont petites et pour des concentrations élevées en SO^4Am^2 (c'est ici le cas puisque r ne varie pas sensiblement avec S) r représente avec une approximation suffisante le facteur par lequel on doit multiplier l'azote pour avoir le poids d'hydrate de protéide correspondant. Nous appliquerons à la sérum-albumine et à la sérum-pseudoglobuline cette notion simple souvent utilisée d'ailleurs par SÖRENSEN lui-même dans des conditions analogues.

L'hydratation des précipités est constante dans les conditions de nos expériences. Nous avons tenu à vérifier que les valeurs trouvées pour r sont applicables aux protéides dissous. Nous avons, suivant le procédé utilisé par SÖRENSEN dans le cas de l'ovalbumine, réalisé un équilibre à travers une membrane

de collodion. Une solution de sérum-albumine mélangée de précipité a été introduite à l'intérieur d'un sac dialyseur de collodion, et une solution de même teneur approximative en SO^4Am^2 a été placée à l'extérieur. Le sac de collodion était fixé sur un tube de verre qui a été fermé ; l'équilibre de pression s'est réalisé tandis que s'installait l'équilibre de répartition des électrolytes ; des agitations répétées ont favorisé le rapide établissement de ces divers équilibres. Le récipient contenant le liquide extérieur était protégé contre toute évaporation, grâce à une fermeture hermétique (feuille de caoutchouc). Au bout de quatre jours, on peut considérer l'équilibre comme pratiquement atteint (*). Des prises ont été effectuées sur le liquide extérieur et sur le mélange intérieur. Ce dernier, par centrifugation de courte durée à grande vitesse, donne un liquide clair et un précipité. Le tableau suivant présente les résultats des analyses des trois fractions : solution extérieure, solution intérieure claire, précipité imbibé d'eau mère.

		N _{amm}	N _{prot}	r
Mélange A	Précipité + eau-mère	3,936	2,688	8,27
pH 4,72	Liquide intérieur clair	4,86	0,4773	
	Liquide extérieur	5,076		8,91
Fraction F ₃	Précipité	4,21	2,058	8,4
pH 4,68	Liquide intérieur	4,774	0,731	
	Liquide extérieur	5,100		8,75

Deux échantillons de sérum-albumine ont été soumis à cette expérience. Les chiffres d'azote ammoniacal et d'azote protéique sont les moyennes des résultats obtenus sur trois prélèvements. Les facteurs r obtenus par application de la méthode de proportionnalité aux liquides extérieurs et intérieurs sont plus forts, mais cela ne signifie pas à notre avis, que les particules dissoutes sont plus hydratées que les particules précipitées. A ce sujet, il est tout indiqué de se reporter à l'étude de cette question déjà faite par SÖRENSEN (⁹⁰, page 277). Cet auteur envisage théoriquement l'influence possible d'un équilibre du genre DONNAN, sur le rapport de distribution d'un sel entre deux liquides séparés par une membrane, dans le cas où le liquide intérieur à la membrane contient un ampholyte. Il applique les résultats de son calcul au cas de l'ovalbumine et d'une solution de SO^4Am^2 . La capacité de combinaison de l'ampholyte avec les acides et les bases, qui intervient dans le raisonnement de SÖRENSEN, est du même ordre de grandeur pour la sérum-albumine, et les conclusions sont valables pour le cas présent. De son étude, l'auteur conclut que le rapport de

(*) Avec des précautions suffisantes il n'y a jamais d'attaque bactérienne de ces protéides au cours des opérations.

distribution est toujours très voisin de 1 et d'autant plus que la concentration en albumine est plus petite, et celle de SO^4Am^2 plus grande. D'autre part, pour une certaine valeur de la concentration des ions hydrogène légèrement supérieure à celle qui correspond au point isoélectrique, le rapport est égal à 1. Il s'éloigne de 1 pour toute autre valeur, mais la déviation est moins sensible à un accroissement qu'à une diminution de la concentration en ions H.

De toute façon, la concentration en SO^4Am^2 libre est toujours plus grande dans le liquide extérieur que dans le liquide intérieur, et ceci se traduit par un accroissement de r , qui dans ce cas, est donné par la formule :

$$r = \frac{[(N_{\text{amm}}) \text{ ext.} - (N_{\text{amm}}) \text{ int.}] \cdot 100}{(N_{\text{amm}}) \text{ ext.} \cdot (N_{\text{prot}}) \text{ int.}}$$

$$r = \frac{100(1 - \frac{(N_{\text{am}}) \text{ int.}}{(N_{\text{am}}) \text{ ext.}})}{(N_{\text{prot}}) \text{ int.}}$$

Les conditions de nos expériences sont : une forte concentration en SO^4Am^2 , et un $p\text{H}$ très voisin de $p\text{H}_i$. Elles autorisent à penser que le rapport de distribution est très peu différent de 1, mais une *erreur relative faible* sur la détermination des N_{amm} correspond à une *erreur relative considérable* sur la différence :

$$(N_{\text{am}}) \text{ ext.} - (N_{\text{am}}) \text{ int.}$$

En effet, dans nos expériences, cette différence est dans un cas à peu près 20 fois et dans l'autre à peu près 15 fois plus petite que la plus faible des teneurs en azote ammoniacal.

L'influence de l'équilibre de DONNAN se traduit donc aussi d'une manière très marquée sur la valeur de r , et suffit à expliquer les fortes valeurs trouvées.

Ainsi que l'a fait SÖRENSEN lui-même, pour ses expériences de solubilité sur les protéides du sérum de cheval, nous utiliserons dans la suite le facteur trouvé pour le précipité $r = 8,31$ à la fois pour la sérum-albumine précipitée et pour le protéide en solution. Il est des plus vraisemblable que l'hydratation soit dans les conditions de nos expériences identique pour les particules précipitées et celles qui sont dissoutes.

Les facteurs que nous avons déterminés, si on les ramène à des températures égales, sont les mêmes que ceux donnés par SÖRENSEN à propos de la sérum-albumine et de la sérum-pseudoglobuline de cheval. L'analogie des propriétés des fractions protéiques obtenues à partir des sérums de cheval et de bœuf apparaîtra encore plus profonde dans la suite.

EXPÉRIENCES OÙ VARIE LA QUANTITÉ DE PROTÉIDE MISE EN PRÉSENCE D'UNE QUANTITÉ DONNÉE DE SOLVANT

Description des expériences. — Ces recherches préliminaires étaient indispensables avant d'aborder l'étude de l'influence de la quantité d'hydrate de protéide mise en présence d'une quantité donnée de solvant sur la solubilité

du protéide. Dans les recherches qui suivent, nous avons étudié la variation de la solubilité s d'une fraction de protéide en fonction de la quantité Z d'hydrate de protéide présente pour 100 grammes de l'eau du solvant dans le mélange total du précipité et de la solution. La solubilité s est comptée en grammes d'hydrate de protéide pour 100 grammes d'eau du solvant. Dans les expériences de SÖRENSEN et de ses collaborateurs, nous l'avons signalé, une préoccupation essentielle est d'obtenir des résultats comparables pour différents protéides. Pour cela, ces chercheurs s'arrangent de façon à ce que la solubilité s soit voisine de 0,5 lorsque le mélange en expérience contient 1 gramme d'hydrate de protéide pour 100 grammes d'eau ($Z = 1$). *Dans nos diverses séries d'expériences, nous avons au contraire choisi les conditions expérimentales de manière à étudier l'effet de la concentration du protéide dissous, sur la variation de s en fonction de Z .* Pour une même fraction protéique, nous avons conduit plusieurs séries de déterminations, chacune de ces séries correspondant à une concentration donnée en sel. Le matériel initial pour la sérum-albumine était le mélange hétérogène :

A	Hydrate d'albumine.....	14,2 gr. % d'eau libre
	Sulfate d'ammoniaque.....	31,05 gr. % d'eau »
	$pH : 4,83$	

Deux autres mélanges ont été préparés à partir de A en le diluant avec des quantités pesées convenables d'eau et d'une solution stock à 67,03 de sulfate d'ammoniaque pour 100 d'eau. Ce sont les mélanges B et C :

B	Hydrate d'albumine	10,6 gr. % d'eau libre
	Sulfate d'ammoniaque.....	33,95
	$pH : 4,81.$	
C	Hydrate d'albumine	9,73 gr. % d'eau libre
	Sulfate d'ammoniaque.....	35,95
	$pH : 4,86,$	

Des solutions de sulfate d'ammoniaque dont les teneurs en sel pour 100 d'eau libre étaient respectivement égales à celles des mélanges A, B et C ont été préparées par dilution convenable de la solution stock, en même temps qu'était introduite la quantité d'ammoniaque nécessaire pour amener le pH à la valeur voulue (*).

Des parties pesées du mélange A ont été ajoutées à des quantités pesées variables des solutions de sulfate d'ammoniaque de même teneur et de même pH . Les mélanges ainsi réalisés et contenus dans des fioles bouchées sont demeurés pendant huit jours à la température constante de 18° et ont été agités

(*) Lorsque la concentration des ions hydrogène est suffisamment élevée (15.10^{-8} ou davantage) la quantité d'acide provenant de l'hydrolyse du sulfate d'ammoniaque est négligeable devant l'acide en excès par rapport au sel neutre. Cet excès d'acide exprimé en équivalents par litre peut alors se calculer d'après la formule approchée : $s = h.f_s$, h étant la concentration des ions hydrogène et f_s le facteur qui relie l'acidité totale du milieu à la concentration des ions hydrogène. SÖRENSEN a établi une courbe qui donne la variation de f_s en fonction de la concentration du sulfate d'ammoniaque (en équivalents par litre). L'usage de cette courbe (90 , p. 89) permet d'éviter bien des tâtonnements.

fréquemment. Au bout de ce temps, une centrifugation rapide et de courte durée permet d'obtenir à partir de chacun de ces mélanges, sans échauffement ni évaporation, une solution claire qui sert aux déterminations de la solubilité s , de la teneur S en sulfate d'ammoniaque, du pH . Une prise effectuée auparavant sur le mélange total d'hydrate de protéide précipité et de solution permet un contrôle complet des conditions expérimentales. Nous avons déterminé l'azote ammoniacal (N_{am}) et l'azote protéique (N_p) pour cent de chaque prise. Le détail des déterminations de ces teneurs en azote est une reproduction presque complète des techniques employées par SÖRENSEN et ses collaborateurs (page 51) (N_{am}). 4,716 représente le poids de sulfate d'ammoniaque, (N_p) . r , le poids d'hydrate d'albumine contenu dans 100 grammes de la prise. L'eau est obtenue par différence.

TABLEAU III

Solubilité de la sérum-albumine

Grammes d'hydrate de protéïde % d'eau			ΔZ	Δs	$\frac{\Delta s}{\Delta Z}$	$Z_{\text{moy.}}$ ou $\frac{z_1 + z_2}{2}$	$\frac{s_{\text{corr.}}}{Z_{\text{moy.}}}$	SO ⁴ Am ² Dans le filtrat % d'eau S	pH du filtrat
Dans le mélange	Dans le filtrat								
z	s	$s_{\text{corr.}}$							
A									
14,2	8,35	8,35	6,2	2,1	0,34	11,1	0,67	31,05	4,83
		7,42							
8,0	6,26	6,25	1,7	0,8	0,47	7,15	0,818	31,05	4,83
		5,85							
6,3	5,45	5,45	1,88	1,13	0,60	5,36	0,908	31,00	4,82
		4,87							
4,42	4,35	4,32	1,85	1,76	0,95	3,5	1,00	31,05	4,82
		3,5							
2,57	2,56	2,56						30,95	4,815
B									
10,6	2,77	2,77	2,24	0,27	0,12	9,48	0,28	33,30	4,805
		2,65							
8,36	2,50	2,50	1,46	0,20	0,137	7,63	0,315	33,40	4,81
		2,40							
6,90	2,24	2,30	1,79	0,32	0,179	6,00	0,358	33,35	4,815
		2,15							
5,11	2,00	1,98	1,75	0,39	0,223	4,23	0,425	33,35	4,82
		1,80							
3,36	1,59	1,59						33,45	4,82
C									
9,73	0,81	0,81	7,41	0,27	0,0364	6,02	0,116	36,00	4,86
		0,70							
2,32	0,543	0,54	1,295	0,14	0,108	1,67	0,284	35,90	4,86
		0,475							
1,025	0,402	0,40	0,45	0,072	0,16	0,80	0,46	35,95	4,85
		0,37							
0,574	0,333	0,33						35,90	4,845

Deux séries de déterminations ont été effectuées à partir des mélanges B et C en opérant comme il vient d'être dit pour A. Pour la sérum-pseudoglobuline, nous avons procédé de manière semblable. Deux séries d'expériences ont été conduites, l'une à partir du mélange A' :

A'	Hydrate de pseudoglobuline.....	9 gr. 56 % d'eau
	Sulfate d'ammoniaque.....	20 gr. 07 % d'eau
	pH : 4,81	

l'autre à partir du mélange B'

B'	Hydrate de pseudoglobuline.....	4 gr. 34 % d'eau
	Sulfate d'ammoniaque.....	22 gr. 90 % d'eau
	pH : 4,82	

Par dilution de A' et de B' au moyen de solutions de sulfate d'ammoniaque de mêmes teneurs en sel pour 100 d'eau, et de mêmes pH respectifs, deux séries de mélanges ont été réalisés qui ont servi aux déterminations de solubilité reproduites dans chacun des tableaux III et IV.

TABLEAU IV

Solubilité de la sérum-pseudoglobuline

Grammes d'hydrate de protéide % d'eau			ΔZ	Δs	$\frac{\Delta s}{\Delta Z}$	$Z_{\text{moy.}} = \frac{z_1 + z_2}{2}$	$\frac{s_{\text{corr.}}}{Z_{\text{moy.}}}$	SO ⁴ Am ² Dans le filtrat % d'eau	pH du filtrat
Dans le mélange Z	Dans le filtrat								
	s	s ^{corr.}							
A'									
9,56	5,88	5,95						20,05	4,81
		5,62	2,03	0,72	0,354	8,54	0,659		
7,53	5,26	5,23						20,15	4,81
		4,90	1,33	0,70	0,526	6,86	0,714		
6,20	4,53	4,53						20,15	4,80
		4,10	1,61	1,06	0,658	5,50	0,746		
4,59	3,30	3,47						20,00	4,805
		2,92	1,56	1,07	0,686	3,81	0,766		
3,025	2,40	2,40						20,10	4,80
B'									
4,34	1,14	1,14						22,95	4,82
		1,04	1,48	0,20	0,135	3,6	0,289		
2,86	0,94	0,94						22,90	4,815
		0,835	1,16	0,24	0,207	2,28	0,366		
1,70	0,72	0,70						22,90	4,82
		0,60	0,76	0,22	0,29	1,32	0,454		
0,94	0,48	0,48						23,00	4,825

Dans la présentation, nous avons conservé les notations de SÖRENSEN et utilisé autant que possible la même disposition. L'exemple suivant montre comment une ligne de ces tableaux s'obtient à partir des déterminations directes.

Nous choisissons le tableau correspondant à la pseudoglobuline et dans ce tableau la quatrième ligne de la colonne Z.

Le mélange ici réalisé est composé de 20 cm³ de A' et de 20 cm³ d'une solution de dilution qui pour 100 grammes d'eau contient 20 gr. 10 de sulfate d'ammoniaque. Par pesée on mesure

22 gr. 030 de solution A'
22 gr. 162 de solution de dilution

Si l'on se reporte à la composition de la solution A', on voit qu'il y a dans le mélange :

	Solution A'	Solution de dilution	Mélange réalisé
Eau	17,000	18,460	35,460
SO ⁴ Am ²	3,415	3,698	7,113
Hydrate de protéide	1,627		1,627

De la dernière colonne, on tire : Z = 4,59 % d'eau et S, si l'on veut. Sur une prise de la solution claire à la fin de l'expérience, on détermine :

$$N_{\text{amm}} 3,440 \%$$

$$N_{\text{prot}} 0,3066 \%$$

d'où la composition pour 1 gramme

$$\text{SO}^4\text{Am}^2 \quad 0,1622 \quad = \quad N_{\text{am}} \cdot 4,716$$

$$\text{Hydrate de protéide} \quad 0,02676 \quad = \quad N_{\text{prot}} \cdot 8,74$$

$$\text{Eau} \quad 0,811 \quad \text{par différence}$$

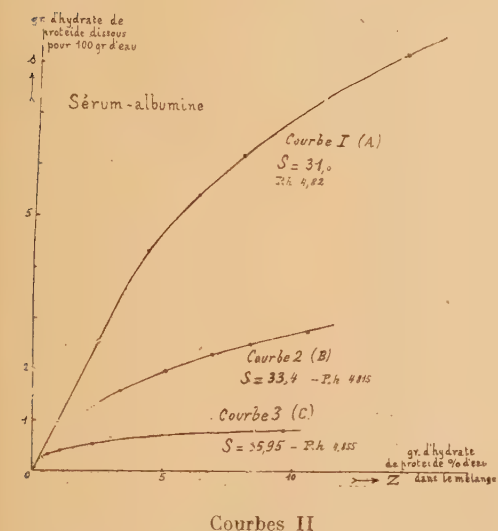
on obtient

$$\begin{cases} s = 3,3 \% \text{ d'eau} \\ S = 20,00 \% \text{ d'eau} \end{cases}$$

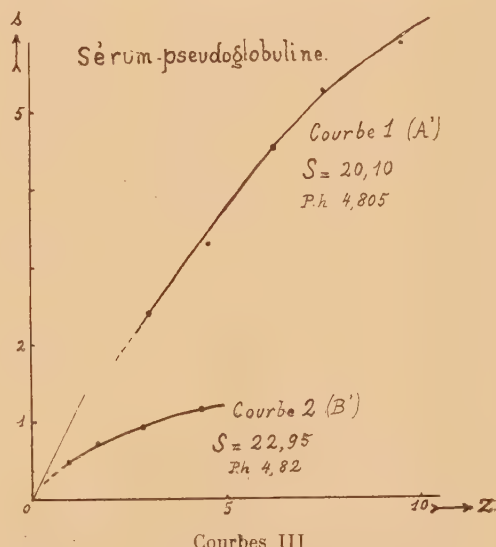
Par une prise sur le mélange total en fin d'expérience, nous avons réalisé fréquemment le contrôle de la valeur de Z obtenue comme nous venons de le montrer. Ces contrôles ont toujours révélé une excellente concordance, et sont parfaitement inutiles à tout autre égard.

Discussion des résultats. — L'examen des courbes II montre plusieurs choses. D'abord, même pour des concentrations relativement fortes en protéide dissous, la solubilité varie considérablement avec la quantité de protéide mise en œuvre. Ensuite, les courbes 1 et 3 qui correspondent à des concentrations différentes en sulfate d'ammoniaque et en protéide dissous sont très comparables.

entre elles ; elles sont grossièrement homothétiques (*). Une droite passant par l'origine rencontre les trois courbes en des points où les tangentes sont presque parallèles entre elles, et que nous considérons comme homologues. Pour nous rendre compte de la similitude des trois courbes, nous avons d'autres procédés. Une droite passant par l'origine coupe les courbes aux points respectifs A, B et C. Réduisons pour la courbe A les coordonnées dans le même rapport $\frac{OA}{OB}$, le point A viendra en B et nous pourrions tenter de superposer les courbes 1 et 2. Mais ici les points expérimentaux ne viennent pas s'enchevêtrer. Nous préfé-



Solubilité d'une fraction de sérum-albumine pour différentes concentrations en sulfate d'ammoniaque.



Solubilité d'une fraction de sérum-pseudoglobuline pour différentes concentrations en sulfate d'ammoniaque.

rons un autre moyen. L'homothétie des courbes se traduit par des valeurs égales de $\frac{\Delta S}{\Delta Z}$ pour des points qui correspondent sur ces courbes à une même valeur de $\frac{S}{Z}$. Nous avons vérifié cette propriété en réalisant les courbes II bis

et III bis qui représentent la variation de $\frac{\Delta S}{\Delta Z}$ en fonction de $\frac{S}{Z}$. L'homothétie approximative des courbes II apparaît. Deux des courbes II bis sont très voisines l'une de l'autre et la courbe de 1 se raccorde convenablement avec celles de 2 et de 3 ; nous avons déterminé approximativement des courbes de variation de $\frac{\Delta S}{\Delta Z}$, en fonction de $\frac{S}{Z}$ à partir des résultats des expériences de SÖRENSEN sur la sérum-albumine et la sérum-pseudoglobuline de cheval. Ces expériences portaient sur de petites valeurs de s , mais elles embrassaient de

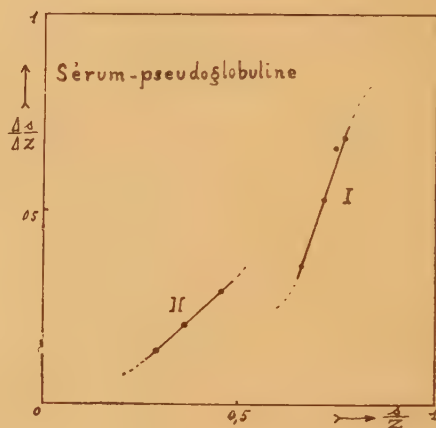
(*) Par rapport à l'origine.

larges variations de $\frac{s}{Z}$. Les courbes que l'on obtient ainsi, fait curieux, se confondent avec celles qui résultent de nos expériences personnelles (⁹², pages 62 et 79).

De cette étude nous tirons les conclusions immédiates suivantes. Le rapport $\frac{s}{Z}$ diminue lorsque Z augmente. Le rapport $\frac{\Delta s}{\Delta Z}$ est une fonction croissante de $\frac{s}{Z}$ qui, pour des fractions de sérum-albumine différentes (celles étudiées par



Courbes II bis
Solubilité d'une fraction de sérum-albumine



Courbes III bis
Solubilité d'une fraction de sérum-pseudoglobuline.

SÖRENSEN comprises) présente une variation à peu près définie. Considérons la grandeur

$$Dt = \frac{\Delta s}{\Delta Z} \cdot \frac{1}{s_1}$$

utilisée par SÖRENSEN, où s_1 est la valeur de la solubilité pour $Z = 1$. Dans nos séries d'expériences A, B et C, qui portent cependant sur une même fraction de sérum-albumine, les variations de la grandeur Dt en fonction de Z sont totalement différentes. Il faut voir une explication à ce désaccord apparent avec les observations déjà citées de SÖRENSEN dans les conditions arbitraires choisies par lui. Ces conditions arbitraires expliquent également l'accroissement rapide observé par lui pour Dt , lorsque Z décroît de 1 à 0. En effet, dans les expériences de SÖRENSEN, le rapport $\frac{s}{Z}$ est choisi volontairement voisin de 0,5 pour $Z = 1$. Lorsque Z varie de 1 à 0 le rapport $\frac{s}{Z}$ passe de 0,5 à 1. Les

courbes II *bis* nous montrent que dans ce cas $\frac{\Delta s}{\Delta Z}$ se rapproche de l'unité. Par suite Dt prend de grandes valeurs et se rapproche de $\frac{1}{s_1}$. En somme le phénomène observé par SÖRENSEN, seulement pour les petites valeurs de Z , est absolument semblable à celui que nous observons pour de grandes valeurs de Z et de s dans la série A de nos expériences sur la sérum-albumine, ou pour de petites valeurs de Z dans la série C ; et pourtant dans la série A d'expériences qui porte sur de fortes concentrations en protéide, une dissociation devrait avoir un effet relativement beaucoup moindre que dans la série C. La dissociation possible de la sérum-albumine n'influence donc pas sensiblement l'allure du phénomène. Pour nous, *il faut admettre une hétérogénéité particulière du protéide et la forme de la courbe de variations de s en fonction de Z dépendrait des proportions réciproques des composants, homéomères entre eux comme nous le verrons plus loin, qui constituent le protéide. Elle dépendrait aussi des solubilités propres de ces composants.*

3° LA SOLUBILITÉ LIMITE

Reportons-nous à ce qui se passe lorsque $\frac{s}{Z}$ devient petit, nous voyons que $\frac{\Delta s}{\Delta Z}$ diminue rapidement. Il semble que la solubilité doive tendre vers une limite ; et cela est naturel puisque la composition du précipité se rapproche de plus en plus de celle de la fraction protéidique utilisée dans l'expérience. *L'addition d'une nouvelle quantité de protéide ne change plus la composition des phases.* La composition de la part dissoute en particulier tend à devenir constante. La quantité de protéide dissoute tend vers une valeur que nous appelons la solubilité limite.

Considérons plusieurs fractions appartenant à un même protéide. Supposons que l'on mélange des quantités connues de ces fractions. Dans un milieu solvant bien défini, quel rapport existe-t-il entre la solubilité limite du mélange réalisé et celles des fractions composantes ?

Supposons que le calcul simple exposé précédemment, au sujet de la solubilité d'un mélange idéal A de substances homéomères entre elles, soit applicable à diverses fractions d'un même système et à un mélange quelconque de ces fractions. Nous admettrons que pour un composant i de ce système le coefficient de partage k_i entre la solution dans un solvant donné et le solide précipité formant une phase unique est indépendant de la composition du solide. Dans le solvant considéré, la solubilité limite d'une fraction s'exprime :

$$S_{\text{lim}} = \sum a_i \cdot k_i$$

a_i étant la concentration relative du composant i dans la fraction. Les solubilités limites de diverses fractions s'écrivent :

$$\begin{array}{ll} \text{Fraction 1} & S_1 = \sum (a_i)_1 \cdot k_i \\ \text{« 2} & S_2 = \sum (a_i)_2 \cdot k_i \\ \dots\dots\dots & \dots\dots\dots \\ \text{« } n & S_n = \sum (a_i)_n \cdot k_i \end{array}$$

Appelons R le poids d'une fraction quelconque contenu dans un gramme du mélange M . La somme $R_1 + R_2 + R_3 \dots + R_n$ est égale à 1. La solubilité limite S du mélange M peut s'écrire :

$$S = \sum A_i \cdot k_i$$

où chaque terme A_i s'exprime :

$$A_i = R_1 \cdot (a_i)_1 + R_2 \cdot (a_i)_2 \dots + R_n \cdot (a_i)_n.$$

En portant dans l'expression de S , il vient :

$$\begin{aligned} S &= R_1 \cdot \sum (a_i)_1 \cdot k_i + \dots + R_n \cdot \sum (a_i)_n \cdot k_i \\ S &= R_1 \cdot S_1 + R_2 \cdot S_2 \dots + R_n \cdot S_n. \end{aligned} \quad (\text{VII})$$

La solubilité limite du mélange est une fonction linéaire et homogène des solubilités limites des fractions composantes. Elle est comprise entre les solubilités limites extrêmes de ces fractions. Cette propriété caractérise l'homéomérie. En effet, si les espèces qui composent chacune des fractions mélangées n'étaient pas homéomères entre elles, la solubilité du mélange serait comprise entre la somme des solubilités limites des fractions et la plus grande d'entre elles.

Détermination de la solubilité limite : 1° d'une fraction de protéide; 2° d'un mélange de fractions. — Trois fractions de sérum-albumine ont été préparées chacune au moyen de deux précipitations partielles successives : la fraction 1 a été obtenue après deux précipitations fractionnées, une entre 48 et 50 l'autre entre 48 et 55, la fraction 2 entre 50 et 55, la fraction 3 entre 55 et 60, toutes trois à partir d'un précipité de sérum-albumine de bœuf obtenu par précipitation à 60 du filtrat des globulines amené à pH 4,7 — 4,8. La fraction de sérum-albumine précipitable entre 43 et 48 susceptible de contenir un peu de pseudo-globuline a été rejetée. Les précipités contenant les fractions 1, 2 et 3 étaient imbibés d'eau mère après la dernière précipitation. L'analyse de prises effectuées sous cette forme, a permis de connaître le facteur r correspondant au précipité ainsi que la teneur en sulfate d'ammoniaque de l'eau mère constituant le milieu de précipitation. Ces résultats ont permis le calcul de la composition et il a été facile d'amener par addition d'eau ou de la solution stock à 67,03 de sulfate d'ammoniaque pour 100 d'eau, les mélanges 1, 2 et 3 à une teneur en sel voisine de 36 % d'eau libre. Par des ajustements chacune des solutions claires pou-

vant être obtenues à partir de ces trois mélanges a été amenée à un pH très voisin de 4,68.

Finalement, ces mélanges avaient les caractéristiques suivantes :

1	Hydrate d'albumine.....	47,3 % d'eau
	Sulfate d'ammoniaque.....	36,1 % d'eau
	$pH : 4,675$	
2.	Hydrate d'albumine.....	8,56 % d'eau
	Sulfate d'ammoniaque.....	36,15 % d'eau
	$pH : 4,685$	
3.	Hydrate d'albumine.....	18,0 % d'eau
	Sulfate d'ammoniaque.....	36,05 % d'eau
	$pH : 4,675$	

A l'aide de la solution stock, une solution de sulfate d'ammoniaque de teneur en sel égale à 36,1 % d'eau et de $pH : 4,69$ a été préparée.

Comme précédemment (page 31) des quantités pesées des mélanges 1, 2 ou 3 ont été introduites dans des fioles et additionnées de quantités également pesées de la solution de dilution. Après 10 jours de séjour à 18-19°, avec agitations répétées, des prises ont été effectuées sur les solutions claires obtenues par centrifugation de ces mélanges. Les résultats sont groupés dans le tableau V qui est analogue aux précédents III et IV.

TABLEAU V

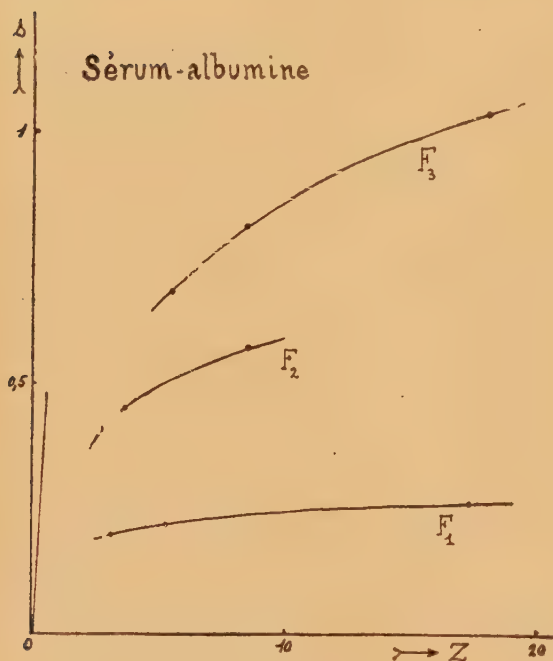
Solubilité limite de fractions de sérum-albumine

Grammes d'hydrate de protéide % d'eau			ΔZ	Δs	$\frac{\Delta s}{\Delta Z}$	$\frac{z_1 + z_2}{2}$	$\frac{s_{corr.}}{Z_{moy.}}$	SO ⁴ Am ² dans le filtrat % d'eau S	pH du filtrat
Dans le mélange	Dans le filtrat								
Z	s	s _{corr.}							
F ₁									
17,3	0,26	0,26	12,03	0,04	0,008	11,3	0,02	36,1	4,675
		0,24						36,10	4,68
5,27	0,22	0,22	2,15	0,022	0,01	4,20	0,05	36,15	4,68
		0,21							
3,12	0,198	0,20							
F ₂									
8,56	0,57	0,57	4,93	0,12	0,024	6,10	0,083	36,15	4,685
		0,51						36,15	4,69
3,63	0,45	0,45	0,87	0,045	0,051	3,2	0,14	36,20	4,68
		0,43							
2,76	0,405	0,405							
F ₃									
18,00	1,03	1,03	9,54	0,22	0,023	18,23	0,072	36,05	4,675
		0,95						36,10	4,675
8,46	0,81	0,81	2,93	0,13	0,044	7,00	0,11	36,10	4,68
		0,755							
5,53	0,68	0,68							

Si nous examinons les courbes IV qui correspondent au tableau V et pour lesquelles l'échelle des ordonnées est 20 fois plus grande que celle des abscisses, nous voyons que ces courbes prolongées admettent chacune une asymptote parallèle à l'axe des abscisses.

On voit très bien que la courbe F_1 prolongée demeurera au-dessous de la droite $s = 0,3$.

Pour les deux autres courbes, nous sommes plus loin de la limite. Les variations de $\frac{\Delta s}{\Delta Z}$ en fonction de $\frac{s}{Z}$ montrent que cette grandeur tend vers 0, mais beaucoup plus rapidement que $\frac{s}{Z}$, si bien qu'on peut atteindre pratiquement la limite de s lorsque le rapport $\frac{s}{Z}$ est de l'ordre de 0,01.



Courbes IV

Solubilités limites de fractions de sérum albumine.



Courbes IV bis

Solubilités limites de fractions de sérum-albumine.

Au point de vue expérimental, nous n'avons pas cherché à atteindre simultanément les limites pour les trois fractions F_1 , F_2 , F_3 ; nous avons seulement voulu voir si la solubilité de mélanges de ces 3 fractions était, au voisinage de la limite, comparable à la valeur donnée par application de la formule VII.

En même temps que les expériences précédentes sur la solubilité de chacune des fractions F_1 , F_2 , F_3 , d'autres étaient conduites sur des mélanges artificiels de ces fractions. Les 4 mélanges suivants ont été réalisés :

	F ₁		F ₂		F ₃	
	Vol.	Poids	Vol.	Poids	Vol.	Poids
Mélange A	20 cm ₃	22,020	20 cm ₃	22,976		
» B	20 »	21,562			20 cm ₃	23,170
» C			20 »	22,982	40 »	46,316
» D	10 »	11,188	20 »	22,964	20 »	23,164

Après 10 jours à 18-19° pendant lesquels de nombreuses agitations ont été effectuées, nous avons fait des prises tant sur les mélanges bruts que sur les liquides clairs provenant de leur centrifugation. Ces liquides ont servi également à la mesure du pH.

La solubilité déterminée expérimentalement est comparée dans le tableau suivant à la valeur calculée en application de la formule VII.

TABLEAU VI

Solubilité limite d'un mélange de fractions

Grammes d'hydrate d'albumine	Mélange A	Mélange B	Mélange C	Mélange D
% d'eau dans le mélange expérimental... Z	12,76	17,65	14,7	13,94
De la fraction 1 Z ₁	8,23	8,35		3,3
De la fraction 2 Z ₂	4,49		2,96	3,55
De la fraction 3 Z ₃		9,31	11,74	7,09
Rapport $\frac{Z_1}{Z} =$ R ₁	0,648	0,473	0,000	0,236
Rapport $\frac{Z_2}{Z} =$ R ₂	0,353	0,000	0,201	0,254
Rapport $\frac{Z_3}{Z} =$ R ₃	0,000	0,527	0,80	0,508
R ₁ .S ₁	0,168	0,123	0,00	0,0615
R ₂ .S ₂	0,201	0,00	0,114	0,145
R ₃ .S ₃	0,00	0,543	0,825	0,524
S calculé.....	0,369	0,666	0,939	0,73
S expérimental.....	0,39	0,73	0,96	0,80

4° CARACTÈRES DE L'HÉTÉROGÉNÉITÉ DE PROTÉIDES

Le tableau VI montre que les valeurs expérimentales trouvées pour la solubilité limite de mélanges de fractions de sérum-albumine, sont toujours comprises entre les solubilités limites extrêmes des fractions composantes (tableau V). Elles sont légèrement supérieures aux valeurs calculées en fonction des solubilités limites des fractions composantes. Or les solubilités qui interviennent ici correspondent à diverses valeurs de $\frac{S}{Z}$ comprises entre 0,015 (F₁) et 0,057 (F₃). Cela signifie que les conditions ne sont pas exactement comparables

dans ces expériences. Si l'on effectue la comparaison en se servant de valeurs de la solubilité déterminées graphiquement et correspondant toutes à une même valeur de $\frac{s}{Z}$, la concordance observée est encore meilleure. La vérification expérimentale de la formule basée sur notre calcul simple est donc suffisamment précise. Nous en tirons la conclusion suivante : la sérum-albumine est un système hétérogène dont les composants multiples sont *homéomères* et se réunissent probablement sans donner lieu à des équilibres complexes d'association dans des phases précipitées ou cristallisées communes (vraisemblablement une seule phase commune). D'autre part, lorsque les proportions des composants varient dans les fractions de façon à ce que la solubilité au voisinage de la limite passe de 0,26 à 1,03, les coefficients de partage relatifs aux composants gardent sensiblement des valeurs constantes.

Ces conclusions limitées sont valables pour la sérum-albumine, et il est tellement facile d'imaginer des systèmes où les coefficients de partage dépendraient de la composition des phases précipitées que l'on ne saurait généraliser ou refuser d'étendre sans précautions ces conclusions à d'autres systèmes protéiques, comme la sérum pseudoglobuline par exemple.

Une substance aisément cristallisable comme l'ovalbumine, et par surcroît peu dissociable, conviendrait à une tentative de généralisation, mais sa faible hétérogénéité la rend peu accessible à des études de variation de la solubilité. A cet égard, on peut interpréter les expériences de SÖRENSEN comme une preuve de la quasi identité de propriétés des composants de l'ovalbumine. Il semble qu'on puisse toutefois considérer comme générale pour les protéides naturels la conception de leur hétérogénéité. Cette manière de voir donne la clef de nombreux problèmes. La réversibilité du fractionnement des protéides du sérum au moyen des méthodes employées par SÖRENSEN apparaît comme allant de soi. Les sept fractions (4 de globulines et 3 de sérum-albumine) étudiées par FISCHER et BLANKENSTEIN (¹⁵, ³⁷) ou les onze fractions obtenues par LUSTIG et HAAS (⁶⁷) apparaissent comme un effort vers la séparation de composants.

Application de la formule de Cohn aux protéides hétérogènes. — L'hétérogénéité des protéides explique pourquoi on éprouve des difficultés à exprimer la solubilité de ces substances dans les solutions salines concentrées au moyen de la formule de COHN. Nous utiliserons ici la formule de même type employée par SÖRENSEN.

$$\log s = \alpha \cdot S + \beta$$

où s est le poids d'hydrate de protéide dissous dans 100 grammes d'eau de la solution saline, S est le poids de sel pour 100 grammes d'eau. Cette formule, applicable à un composant défini, l'est sans doute pour un mélange, mais l'application peut être très souvent délicate.

Reportons-nous aux trois courbes qui représentent les variations de la solubilité de la fraction A de sérum-albumine pour trois valeurs distinctes de la concentration en sulfate d'ammoniaque. Une droite passant par l'origine coupe

ces courbes en des points homologues, du moins approximativement. Pour ces points homologues, nous montrerons plus loin que les phases précipitées ont une composition équivalente. A chaque droite passant par l'origine et coupant les trois courbes correspond une certaine composition du précipité et les valeurs de s ainsi définies sont égales aux solubilités limites d'une fraction qui aurait même composition que le précipité considéré. Trois points homologues permettent d'étudier la variation de la solubilité limite d'une telle fraction hypothétique en fonction de la concentration S en sulfate d'ammoniaque. A chaque valeur de $\frac{s}{Z}$ correspond une courbe de variation de $\log s$ en fonction de S .

n° 1

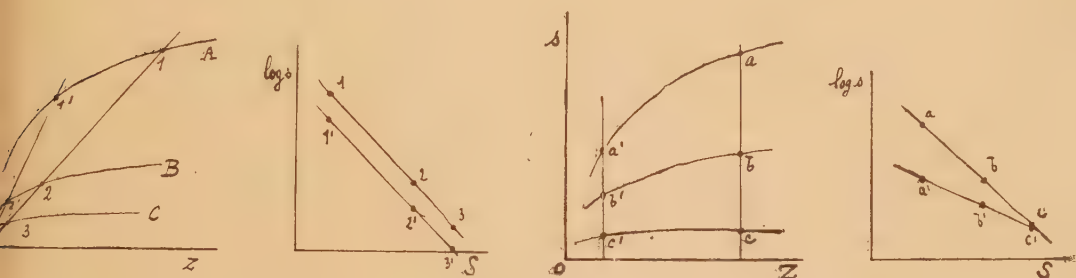


Fig. 5. — Schémas d'interprétation des expériences de solubilité.

Toutes les mesures de SÖRENSEN (⁹², page 61) sur la solubilité de diverses fractions de sérum-albumine dans des solutions de sulfate d'ammoniaque de concentration variable correspondent à une même valeur de Z . Chaque fraction donne lieu à plusieurs séries de mesures, le pH variant d'une série à l'autre. Nous pouvons schématiser une série de ces expériences en traçant une droite parallèle à l'axe des ordonnées qui coupe les courbes A, B et C aux points respectifs a , b , c . Les valeurs de s , qui correspondent à ces points sont comparables à celles qu'utilise SÖRENSEN. Si nous faisons varier l'abscisse de cette droite, cela permet d'obtenir pour chaque valeur de Z , la variation de s en fonction de S , et selon qu'on aura choisi arbitrairement Z grand ou petit, la courbe qui représentera la variation de $\log s$ en fonction de S , sera peu ou plus nettement inclinée sur l'axe des S . Cela revient à dire que la valeur de z dépend uniquement du choix de Z , ou bien Z étant fixé du choix de la fraction. Il est donc naturel que les valeurs de z déterminées par ce procédé aient été différentes d'une fraction à une autre et différentes à divers pH pour une même fraction, dans les expériences conduites par SÖRENSEN ; la valeur maxima seule avait un sens. L'utilisation de nos courbes, A, B, C (la courbe C ayant été corrigée approximativement de manière à correspondre au pH 4,82) nous a permis de déterminer une valeur approchée du coefficient z de la formule de SÖRENSEN. Nous avons à plusieurs reprises pris sur ces courbes des points correspondant à une même valeur de $\frac{s}{Z}$. La moyenne de plusieurs déterminations a donné :

$$z = -0,36 \text{ (pour } S \text{ compris entre } 30 \text{ et } 36).$$

Il s'agit en somme d'une moyenne très complexe qui s'applique à l'ensemble des composants de la sérum-albumine. Pour l'ovalbumine SÖRENSEN a donné la valeur — 0,22. Dans cette dernière détermination la précision est certainement excellente. Il ne doit pas en être de même pour la nôtre en raison du procédé employé.

Généralisation de la formule de Cohn. — Pour justifier théoriquement ce procédé, nous nous reportons à la relation (IV) que nous écrivons ici :

$$\frac{1}{Z} = \sum \frac{a_i}{Z - s + k_i}$$

Les valeurs des k_i de l'équation IV correspondent à un milieu solvant défini, par exemple à une solution de sulfate d'ammoniaque dont nous appellerons la concentration S_0 . Nous avons admis que les coefficients de partage ne dépendent pas de la composition de la phase solide, cela signifie qu'ils ne dépendent que de S , concentration saline du milieu solvant. Quand S varie on obtient une famille de courbes que l'on peut représenter par une équation analogue à IV où chaque k_i est devenu λ_i . k_i , λ_i étant une fonction de S égale à 1 quand $S = S_0$. En particulier une famille de courbes homothétiques par rapport à l'origine, sera représentée par l'équation générale :

$$(IV \text{ bis}), \quad \frac{1}{Z_i} = \sum \frac{a_i}{Z - s + \lambda k_i}$$

où les k_i sont les constantes qui se trouvent dans IV et λ une fonction de la concentration saline.

Au point A de la courbe IV dont les coordonnées sont Z_A et s_A correspond le point λ . Z_A , λ , s_A de la courbe variable IV bis. λ est le rapport d'homothétie. La grandeur q_i qui représente la concentration du composant i dans la solution devient $\lambda \cdot q_i$; la grandeur c_i , concentration relative du composant i dans le solide ne varie pas. Comme on le voit, dans une telle transformation la composition de la fraction dissoute et celle de la fraction solide n'auront pas varié.

Puisque nos courbes expérimentales A, B et C sont approximativement homothétiques, cela signifie que les coefficients de partage relatifs aux différents composants homéomères du protéide varient tous en fonction de la concentration saline suivant à peu près la même loi. Ce résultat se trouve exprimé dans la relation

$$(VIII) \quad \log k_i = \alpha \cdot S + \beta_i$$

où k_i est une fonction de S , où α est une constante identique pour tous les composants, β_i un terme qui représenterait théoriquement le coefficient de partage pour l'eau pure du composant i (β_i est une fonction de pH). Cette relation approchée, plus générale que celle de COHN est applicable à des mélanges d'espèces étroitement homéomères entre elles aussi bien qu'à des substances définies.

On peut montrer que, pour des points homologues, l'application de cette formule conduit à une relation de même forme que celle de COHN.

Il est donc possible de rendre compte des caractères de solubilité de la sérum-albumine dans les solutions concentrées de sulfate d'ammoniaque en admettant que la combinaison hydratée de protéide avec le sel se comporte comme le ferait un mélange d'espèces définies étroitement homéomères entre elles.

CHAPITRE V

LA STRUCTURE INTIME DES MICELLES PROTÉIDIQUES

1^o THÉORIE ANALYTIQUE DE LA STRUCTURE DE LA MICELLE DES PROTÉIDES

Si on accepte la notion de l'homéomérie des particules constitutives d'un protéide, il devient possible d'esquisser la description de leur structure intime. La nécessité de cette tentative est grande si l'on se place du point de vue de la chimie biologique et si l'on veut comprendre en quoi la notion de « groupement prosthétique de la molécule albuminoïde » jadis introduite par A. KOSSEL peut éclairer la représentation que nous devons nous faire des processus par lesquels les protéides des tissus s'édifient ou se détruisent. Nous pouvons affirmer que les généralisations dues à SVENDBERG permettent d'élaborer aujourd'hui d'intéressantes hypothèses de travail dans cette voie. Si nous voulons développer l'homéomérie chimique des composants d'un même protéide, l'hypothèse d'un noyau prosthétique central défini et commun à toutes les micelles est précieuse ; les données récentes fournies par l'étude des spectres de rayons de RÖNTGEN permettent alors de construire un schéma représentatif. Le noyau central défini fixe la forme du cristallite.

Description des micelles. — Une particule protéidique serait constituée d'après nous par un noyau central défini, assemblage relativement stable de longues chaînes fermées dont chacune serait formée d'un nombre pair de chaînons parallèles reliés entre eux à leurs extrémités par des liaisons chimiques ordinaires ; à ce noyau seraient combinées à la faveur de liaisons le plus souvent mobiles des chaînes latérales. A l'intérieur des chaînes fermées du noyau central l'assemblage peut se faire entre les extrémités des chaînons de peptides par des liaisons peptidiques ; dans un chaînon du noyau central se répèteraient périodiquement des mêmes groupes comme dans les chaînes décrites par STAUDINGER ou peut-être simplement des groupes analogues. Dans ces conditions, l'ensemble des chaînons parallèles forme un noyau à peu près défini de chaînes fermées qui doit être résistant ; une rupture en un endroit quelconque d'une des chaînes centrales entraîne l'écroulement de tout l'édifice. Un noyau central qui ne comporte dans ses chaînes que des liaisons peptidiques, doit être nécessairement moins vulnérable que celui où figurent également des chaînes glucidiques ou lipidiques engagées par d'autres liaisons. Le long d'un chaînon du noyau, des liaisons plus ou moins mobiles, fixeraient une ou plusieurs chaînes latérales successives. Lorsqu'il s'agit de polypeptides, les groupes acides ou basiques terminaux de ces chaînes sont nécessairement libres. Lorsque les chaînes

latérales possèdent une similitude de structure suffisante avec les chaînes centrales auxquelles elles sont reliées, grâce à la souplesse de la structure dentelée de ces chaînes (voir par exemple J.-J. TRILLAT ⁽¹⁰⁴⁾) on peut prévoir l'existence de forces d'association de Van der Waals entre des groupes analogues qui se reproduisent avec une même périodicité le long des chaînes accolées. De telles liaisons ne devraient pas résister en solution. On peut penser à des associations de dipôles. Nous ne saurions faire une distinction entre ce dernier mode de liaison qu'envisage d'ailleurs STAUDINGER ⁽⁹⁵⁾ et une liaison de valences secondaires (WERNER) dont la nature physique n'est pas connue. Il y a, dans la liaison des chaînes latérales au noyau, tout une série de possibilités allant de la liaison chimique ordinaire jusqu'à la simple cohésion. Suivant le protéide, un mode ou l'autre ou même encore plusieurs modes de liaison seront à envisager.



Schéma de la structure du noyau hypothétique.

Fig. 6.

En adoptant dans un but de simplification les vues de MEYER et MARK sur la structure du constituant cristallographiquement organisé de la fibroïne, les motifs qui devraient figurer dans le schéma du noyau de la fibroïne seraient :



chacun de ces motifs présentant une forme de structure dentelée. Pour un protéide quelconque ces motifs peuvent être en nombre différent de quatre dans la maille élémentaire, mais ce nombre doit être pair afin de permettre la fermeture de la chaîne : cela s'impose également du point de vue cristallographique. Un motif peptidique quelconque peut être représenté par la formule générale $-\text{NH} - \text{R}_1 - \text{CO} - \text{NH} - \text{R}_2 - \text{CO} - \dots - \text{NH} - \text{R}_n - \text{CO} -$ où $-\text{NH} - \text{R} - \text{CO} -$ représente un reste d'acide aminé quelconque. Il faut remarquer que dans cette chaîne un NH peptidique se trouve le plus souvent fixé sur un carbone qui se trouve en α par rapport au CO peptidique suivant.

Si la fixation de chaînes latérales sur le noyau de la fibroïne est possible, on ne peut guère penser avec le schéma présent qu'à une cohésion provoquée par des forces de Van der Waals entre des groupes analogues qui se présenteraient les uns en face des autres le long des chaînes associées ou bien encore à des actions réciproques de dipôles. Mais dans d'autres cas, on pourra envisager d'autres modes de liaison et même de véritables liaisons chimiques.

2° QUELQUES PROPRIÉTÉS DE LA MICELLE HYPOTHÉTIQUE

Pour représenter les protéides à l'état solide, on peut se reporter à la description de la structure de la fibroïne, due à MEYER et MARK. Nous nous en sommes inspiré pour former notre conception du noyau central. MEYER et MARK envisagent des plans particuliers perpendiculaires à l'axe de fibre où se relâcheraient les liaisons dans les chaînes indéfinies de restes d'alanyl-glycine. Pour nous, de tels plans équidistants sépareraient les extrémités longitudinales des noyaux des particules, les cristallites successifs étant reliés entre eux par des forces de cohésion et se trouvant disposés en long parallèlement à l'axe de la fibre. Les chaînes latérales se placeraient entre les prismes indéfinis de cristallites dont les grands axes formeraient un réseau dans l'espace. Ces chaînes latérales seraient alignées parallèlement aux cristallites et orientées par des forces de cohésion. Par suite de leur hétérogénéité ces chaînes latérales seraient le plus souvent disposées sans symétrie dans le réseau cristallin. Lorsqu'une distribution irrégulière des chaînes latérales existerait ainsi, elle pourrait être la cause d'une structure générale irrégulière du réseau cristallin qui serait alors, pour un ensemble assez étendu, presque dépourvu de symétrie. Cela pourrait être la raison du peu de netteté de certains diagrammes de rayons RÖNTGEN et celle de la structure compliquée de la gélatine, étudiée par TRILLAT ⁽¹⁰⁵⁾.

Une manière simple d'envisager le gonflement des protéides dans certains solvants ou au contact de liquides qui les imbibent — la variation de la constante diélectrique du milieu étant mise à part dans ce dernier cas — consiste à y voir en partie (*) l'effet d'une affinité des molécules du solvant pour certains groupes des micelles. Une affinité semblable a été mise en évidence par LANGMUIR dans bien des cas. Si l'on considère ce qui se passe pour les chaînes peptidiques de la micelle dans des solutions neutres, on doit admettre que, par exemple seuls les groupes acides extrêmes d'une chaîne latérale seront fortement ionisés et développeront des forces d'attraction importantes pour certains ions présents dans le solvant, tandis que dans le noyau central ou à l'intérieur des chaînes latérales les groupes libres ionisables sont des groupes faiblement acides ou basiques provenant d'acides diaminés ou d'acides diacides dont un groupe est enchaîné dans une liaison peptidique. Ces derniers groupes ne peuvent développer d'affinités importantes qu'en milieu très acide (groupes basiques) ou très alcalin (groupes acides). Dans les conditions habituelles de stabilité des protéides, les micelles se dilateraient pour permettre la dissolution de leurs divers groupes lyophiles sans que cela provoque une tension exagérée de leurs chaînes. Le gonflement des micelles des protéides semble créer une possibilité de dissociation par extension des chaînes qui les constituent. MASTIN et SCHRYVER ⁽¹¹⁾ signalent une désaggrégation de l'ovalbumine en milieu très acide. Les

(*) On doit admettre que le gonflement d'une protéide solide au contact d'un solvant provient en majeure partie du relâchement des liens entre les micelles. Mais la micelle elle-même doit se déformer.

forces d'attraction auxquelles seraient soumis certains éléments des micelles l'emporteraient alors sur les liaisons qui les maintiennent dans le complexe.

ATSBURY et ses collaborateurs ont précisé la composition et la structure générale dentelée des chaînes du constituant cristallin de la kératine, ce qui leur permet d'expliquer ce qui se passe dans les chaînes pendant diverses phases de l'allongement de la laine. En particulier, l'allongement à la rupture déterminé par des mesures dynamométriques correspondrait à l'extension complète de ces chaînes (SPEAKMAN, ⁽⁹¹⁾). Il semble que le gonflement qui peut provoquer des dissociations doive causer en premier lieu l'extension des chaînes. Il se peut que dans certains cas les chaînes latérales et centrales de particules dissoutes soient déformées selon des figures à peu près inscriptibles dans des cercles, de manière à faire présenter aux particules des formes sensiblement sphériques. L'intérieur de ces particules pourrait contenir une certaine quantité de solvant non combiné. TRILLAT ⁽¹⁰⁵⁾ dans un travail sur le gonflement de films de gélatine (orientée par traction du film) observe des directions privilégiées pour le gonflement. Ces directions dépendraient de la structure du noyau dans notre hypothèse.

La dissociation des protéides est longuement discutée par SÖRENSEN ⁽⁹²⁾, page 30 et suivantes) à l'occasion des critiques adressées par SVEDBERG à ses méthodes de séparation. SÖRENSEN distingue des processus de dissociation réversibles et d'autres qui sont irréversibles. Sur l'exemple de divers temps de la digestion peptique, il décrit des dissociations irréversibles où l'on voit le nombre des carboxyles libres augmenter tandis que la viscosité de la solution diminue. Ces dissociations dues à la pepsine portent sur des liaisons de valences principales et ruinent définitivement l'édifice. D'autres dissociations, n'ayant aucun rapport avec l'action de la pepsine peuvent naître de processus qui augmentent d'abord la viscosité et semblent modifier légèrement l'hydratation moyenne des particules ; elles seraient réversibles le plus souvent et n'intéresseraient, selon l'auteur, que des liaisons de valences secondaires (considérées sans raison profonde comme nécessairement lâches).

H. MARK et K. H. MEYER ⁽⁷⁰⁾ parlant de la décomposition de la cellulose, s'expriment en ces termes : « De nombreux faits indiquent que dans certaines conditions (solutions très diluées, température relativement élevée, conditions favorables à de forts gonflements), et même déjà par simple imbibition, il se produit de telles scissions, qu'on peut constater une certaine décomposition de la micelle cellulosique ; mais il faut distinguer nettement entre la décomposition chimique de la micelle par rupture des liaisons glucosidiques à l'oxygène et la scission de la micelle par neutralisation des valences secondaires. La première est irréversible et exige, à cause de la diminution de la longueur de la chaîne, un relâchement simultané de la structure de la micelle. La seconde est dans certains cas réversible, en solution, et rehausse énormément la réactivité du produit sans par exemple amoindrir la cohésion des chaînes glucosidiques ».

Dans la conception que nous présentons, *certaines processus lésant l'intégrité des chaînes centrales sont plus graves que tous les autres parce qu'ils provoquent l'écroulement du complexe protéidique d'une manière définitive.*

Comme on l'a remarqué, MEYER et MARK, dans leur schéma de structure du constituant cristallin de la fibroïne, SØRENSEN, pensant pour expliquer la mobilité des molécules protéidiques à des possibilités de formation de complexes qui mettraient en jeu dans les solutions des forces d'association de nature aussi mobile que celles qui permettent la construction des solides, STAUDINGER, indiquant la possibilité d'associations par moments de dipôles, ont décrit quelques propriétés essentielles des assemblages protéidiques sans en fixer d'ailleurs définitivement la structure. Nous pensons avoir réalisé la synthèse de leurs observations en faisant intervenir la notion de l'existence d'un noyau central défini dans la molécule protéidique, admise depuis longtemps par de nombreux physiologistes et qui rend parfaitement compte de l'homéométrie des micelles d'un protéide.

Comme nous venons de le montrer, cette hypothèse suggère des recherches qui sont nécessaires à tout autre point de vue. Elle facilite la présentation de quelques problèmes comme la cristallisation et le gonflement des protéides.

CHAPITRE VI

RECHERCHES SUR LA COMPOSITION DES PROTÉIDES

Nous utiliserons ici en partie les résultats de recherches effectuées par nous il y a plusieurs années, en collaboration avec Th. CAHN ⁽²³⁾ et qui concernent la composition des protéides de différents tissus appartenant à des espèces variées de mammifères. Nos recherches nous avaient conduits à admettre l'existence d'un noyau central dans la molécule de ces protéides, mais nous ne possédions pas alors de données structurelles suffisantes pour édifier une hypothèse de travail précise. Nos nouvelles recherches portent sur les protéides du sérum.

Préparation des fractions de protéides en vue de l'analyse. — Pour la préparation des fractions utilisées dans les mesures de solubilité, nous avons suivi exactement la technique de SÖRENSEN en limitant le nombre des précipitations au sulfate d'ammoniaque, afin d'éviter les possibilités de décompositions signalées par SVEDBERG. La fraction désirée redissoute dans un minimum d'eau est ensuite dialysée sous toluène, d'abord contre eau courante, puis contre eau distillée, pendant 48 heures en agitant souvent. On peut alors utiliser la solution obtenue pour la séparation du protéide en vue d'analyses. Un volume donné de cette solution est étendu d'eau et introduit dans un erlenmeyer en pyrex. Pour 150 cm³ de liquide, on ajoute 2 cm³ d'une solution moléculaire d'acétate neutre de sodium et 10 cm³ d'acide acétique normal. On chauffe une heure au bain-marie bouillant. Le liquide refroidi, on ajoute 8 cm³ de la solution d'acétate de sodium réalisant ainsi un *pH* voisin de 4,7. Après un temps suffisant et inférieur à 24 heures, le dépôt de protéide coagulé est filtré sur filtre schleicher sans cendre ni azote, puis lavé abondamment à l'eau bouillante. Après égouttage, s'il s'agit de doser l'azote du protéide coagulé, on introduit le filtre et le précipité dans un matras de KJELDAHL et on effectue la minéralisation sulfurique. On peut aussi déterminer la teneur du filtrat et des eaux de lavage du coagulum en azote ammoniacal. Il suffit de distiller une prise aliquote pesée en présence d'un faible excès de soude à peu près normale dans un appareil d'AUBIN. C'est ainsi que nous avons effectué les dosages d'azote protéique et d'azote ammoniacal sur les filtrats et les précipités obtenus à la fin d'une expérience de solubilité (voir page 32). Les teneurs des filtrats en azote incoagulable non ammoniacal étaient toujours insignifiantes.

En séchant le protéide coagulé dans le vide sulfurique, après broyage au mortier on obtient une poudre aisée à conserver. Les solutions d'œgubuline dans NaCl M/10 sont coagulées après dilution convenable en présence de 7 cm³ d'acétate de sodium M/1 et de 3 cm³ d'acide acétique normal pour 100 cm³ (*pH* 5,8). Sur des prises pesées des protéides obtenus, nous avons déterminé

l'azote, le soufre total, l'arginine par la méthode de JANSSEN telle que nous l'avons modifiée antérieurement ⁽¹⁷⁾ et quelquefois la tyrosine et le tryptophane par la méthode de FOLIN et MARENCZI. Ces analyses ont porté sur les fractions F_1 , F_2 , F_3 de sérum-albumine ayant servi aux expériences de solubilité limite, sur les fractions A de sérum-albumine, A' de sérum pseudoglobuline utilisées dans nos expériences de solubilité, et sur une euglobuline A'' provenant toutes d'un sérum de bœuf n° 1. Un sérum de bœuf n° 2 a servi à préparer deux fractions A_2 et A_3 de sérum albumine dans les mêmes conditions que F_2 et F_3 , une pseudoglobuline et une euglobuline comme pour le sérum de bœuf 1. Un sérum de bœuf n° 3 a servi à la préparation de globulines totales et de fractions d'euglobulines et de pseudo-globulines. Nous donnons en outre l'analyse de protéides de sérums de chien, de cheval et d'homme.

De plus, au cours de préparations de sérum albumine de bœuf ou de cheval, lors de la redissolution du précipité initial, nous avons isolé la substance brune ou verdâtre riche en lipoides décrite autrefois par HARDY. Parfois la dialyse de la sérum-albumine brute permet d'obtenir un précipité présentant également les caractères de cette substance et du gliode de MACHEBŒUF ⁽⁶⁸⁾. Nous avons ainsi réalisé plusieurs modes de préparation et obtenu des produits que nous avons pu comparer en les analysant après dialyse. Pour la préparation de gliode selon MACHEBŒUF, nous avons opéré à basse température et réduit au minimum les temps où le milieu est fortement acide, afin d'éviter une dénaturation de la sérum-albumine non encore séparée (voir SÖRENSEN, ¹², page 106). Souvent, dans le cas du sérum de bœuf, les précipités de protéides obtenus par acidification du filtrat des globulines se redissolvent presque complètement dans l'eau sans qu'on ait besoin d'ajouter d'ammoniaque. Le gliode se rassemble alors seul à froid.

Dans le tableau VII, nous donnons la composition de diverses préparations réalisées par l'un quelconque des procédés que nous venons de signaler. Chaque fois, une partie du produit dialysé a été précipitée par l'alcool et extraite à l'alcool bouillant dans l'appareil de KUMAGAWA. Nous avons dosé les lipides solubles dans le benzène après évaporation à sec de l'extrait alcoolique. Les protéides obtenus après extraction à l'alcool ont été séchés et pesés. Nous n'avons pas recueilli les substances minérales et autres matières insolubles dans le benzène en raison de leur peu d'abondance. Les teneurs en lipides et en protéides sont rapportées à la somme.

TABLEAU VII

Teneurs en lipides et en protides de diverses préparations de gliode.

Espèce	N°	Mode de préparation	% grammes secs	
			Lipides	Protides
Bœuf 1	Ba ₁	Reprise de l'albumine brute par l'eau.	53,3	46,7
» 2	Bb ₂	Dialyse de l'albumine brute	54,6	45,3
» 1	Bc ₁	Selon Mâchebœuf	52,5	47,5
» 3	Bc ₂	Selon Mâchebœuf	36,9	63,1
Cheval	Ca	Reprise de l'albumine brute par l'eau	65,7	34,3

RÉSULTATS DES ANALYSES DE PROTÉIDES DU SÉRUM

Dosage de l'arginine par la méthode de Jansen modifiée selon Bonot et Cahn.
 — Au cours de ces analyses, nous avons déterminé les teneurs des protides isolés : 1° en azote total ; 2° en soufre organique total, 3° en arginine. La technique employée pour doser cet acide aminé est celle que nous avons mise au point et décrite avec Th. CAHN (voir ¹⁷ et ²³). Nous avons perfectionné quelques détails techniques qui augmentent encore la précision. Elle a été adoptée et utilisée avec succès par W. C. ROSE et ses collaborateurs, et HUNTER et DAUPHINEE (³¹ et ⁵⁴) en ont également adopté quelques temps essentiels. Nous rappellerons qu'elle consiste en principe à libérer l'arginine par hydrolyse chlorhydrique, puis à la décomposer, par action fermentaire de l'arginase, en urée et ornithine. L'urée formée est dosée pondéralement à l'état de dixanthylurée selon FOSSE.

Actuellement, nous préparons la poudre d'arginase à basse température. Le suc de presse d'un foie de chien est précipité à 0° par 10 volumes d'acétone refroidi. On centrifuge, lave plusieurs fois à l'acétone froid sur büchner, puis on essore à fond et sèche très rapidement dans le vide sulfurique. On obtient ainsi des poudres dont 0 gr. 05 décomposent totalement 50 à 100 milligrammes d'arginine à un pH compris entre 9,0 et 10,0 dans un volume de 50 à 100 cm³. L'action fermentaire peut être réduite à 36 heures (³¹). Dans ces conditions, les ferments protéolytiques de la poudre ne manifestent pas d'action sensible. On peut, si l'on veut purifier l'enzyme, reprendre la poudre par l'eau et traiter la suspension réalisée par une préparation d'alumine Cy (¹¹⁴), à pH 5, ainsi que le conseillent HUNTER et DAUPHINEE (³¹) puis utiliser pour le dosage la solution claire obtenue, après l'avoir neutralisée. On perd ainsi, sans grand profit dans l'application présente, une grosse partie de l'activité des poudres d'enzyme.

Pour le dosage de l'urée, nous précipitons par le xanthidrol, dans une solution d'acide acétique à 70 % dont le volume ne dépasse pas 30 cm³, l'urée qui provient de 50 à 100 milligrammes d'arginine. Ceci dispense de corrections dues à la solubilité du précipité ; nous lavons à l'alcool ordinaire la dixanthylurée. Dans ces conditions, on peut doser l'arginine à 1 % près.

TABLEAU VIII

Teneurs en Azote, en Soufre et en Arginine des protéides du sérum.

Espèce	Protéide	Pour 100 grammes secs			Rapport Soufre Azote	Rapport Arginine Azote
		Azote total	Soufre organique total	Arginine		
Bœuf 1	Sérum-albumine A	15,45	2,20	6,38	0,142	0,413
» 1	» F ₁	16,3	2,09	6,66	0,128	0,408
» 1	» F ₂	16,0	2,16	6,57	0,135	0,411
» 2	» A ₂	15,75	2,04	6,59	0,130	0,410
» 2	» A ₃	14,7	2,03	6,07	0,138	0,412
Chien	»	14,7	1,98	6,05	0,135	0,411
Cheval	»	14,55	1,76	6,04	0,121	0,415
Bœuf 1	Euglobuline	14,66	0,983	6,25	0,067	0,426
» 2	»	13,75	0,935	5,73	0,068	0,417
» 3	»	14,03	0,941	5,69	0,0671	0,406
» 1	Pseudo-globuline	15,4	1,08	6,49	0,070	0,421
» 3	»	13,9	0,965	5,47	0,0694	0,394
» 3	Globulines totales	14,63	0,97	6,15	0,066	0,421
Chien	»	14,8	1,00	6,06	0,0675	0,409
Cheval	Euglobuline	12,45	0,79	4,83	0,0634	0,388
»	Pseudo-globuline	14,0	1,09	5,51	0,078	0,393
Bœuf 1	Gliode délipidé Ba à l'alcool bouillant	14,72	0,44			
» 2	Gliode délipidé Bb à l'acétone	12,4	0,29	5,12		0,412
» 1	Gliode délipidé Bc à l'acétone	13,53	0,37	5,71		0,422
» 3	Gliode délipidé Bc à l'alcool bouillant	15,2	0,82			
Cheval	Gliode délipidé Ca à l'alcool bouillant	15,0	0,56			
Homme	Protéides totaux du sérum	14,32	1,335	6,34	0,093	0,442
Cheval	»	14,1	1,14	5,76	0,081	0,408
Bœuf 3	»	14,5	1,13	5,60	0,078	0,387
Chien	»	14,5	1,16	5,83	0,080	0,402
Bœuf 1	»	14,95	1,14	5,83	0,0763	0,390

L'examen des données qui figurent dans le tableau VIII, montre que nos fractions de protéides ne contiennent pas des quantités constantes d'azote par rapport au poids sec ; il est cependant possible, en principe, de les y amener et nous avons montré en 1928 avec Th. Caux que les protéides totaux déshydratés des divers tissus de mammifères contenaient tous, à très peu près, 16 % d'azote. Il faut pour arriver à cette constance de teneur : 1° délipider totalement les protéides à l'alcool bouillant dans un appareil de Kumagawa : 2° extraire les cendres par l'acide acétique très dilué et bouillant selon JANNEY. Nous avons montré que l'exception apparente présentée par les protéides du foie disparaissait et qu'ils rentraient dans la règle commune si l'on déduisait la teneur en glycogène (dosé selon PFLÜGER). Nous admettons que nos résultats peuvent être étendus au cas des constituants du sérum et que chez les mammifères ou oiseaux, tous les protéides du sang et des tissus contiennent, après délipidation, à l'état déshydraté 16 % d'azote. Cette teneur constante est alors caractéristique des chaînes peptidiques pour ces protéides dénaturés, *totalement déshydratés et délipidés*.

Dans nos recherches actuelles, nous n'avons pas souvent fait de délipidation

totale des protéides par l'alcool bouillant, et la déshydratation totale n'a pas été réalisée dans tous les cas (euglobulines, protides du gliode, etc., isolés par précipitation acétonique) d'où des variations explicables de la teneur en azote pour 100 grammes secs.

Ce problème ne nous arrêtera pas, car nous n'attachons aucune importance à l'expression des résultats en fonction du poids sec. En effet, si l'on voulait être précis, il faudrait exprimer la teneur en azote par rapport au poids de l'hydrate de protéide qui existait en fait en solution, ou par rapport au poids du protéide sec *non dénaturé* qui lui correspond. Ces façons de procéder, théoriquement seules correctes, sont inusitées et présentent de grosses difficultés pratiques.

Le seul mode d'expression qui nous paraît devoir retenir ici l'attention est celui que nous avons déjà employé à l'exemple de nombreux auteurs, et qui consiste à exprimer les résultats de nos dosages par rapport à l'azote total lui-même.

Si nous examinons les résultats figurant dans le tableau VIII, nous sommes frappés par le fait que le rapport des teneurs en arginine et en azote est sensiblement le même pour différentes fractions d'un même protéide, et, de plus, pour les différents protéides du sérum. Le rapport des teneurs en soufre et en azote a grossièrement même valeur pour différentes fractions d'un même protéide ; il est double, pour la sérum-albumine, de ce qu'il est pour la globuline.

Les analyses des protides délipidés provenant du gliode montrent un rapport des teneurs en arginine et en azote identique à ceux qu'on obtient pour les autres protéides du sérum. Les chaînes peptidiques du gliode présentent donc une analogie certaine avec celles des deux protéides les plus étudiés du sérum. Il se présente comme un *protéide distinct*. Nous n'interpréterons pas la signification des teneurs en soufre des chaînes peptidiques du gliode en raison de la présence probable de fractions dénaturées de sérine, dans certaines préparations de gliode utilisées ; la préparation du gliode par un procédé quelconque n'est d'ailleurs pas encore définitivement au point à ce jour.

A la lumière de recherches récentes (MUELLER ⁽⁷⁸⁾, BARGER et COYNE ⁽⁹⁾), nous devons considérer le soufre organique des protéides du sérum, comme une somme correspondant certainement au moins à la cystine et à la méthionine (Le glutathion et l'ergothionéine sont peu abondants dans le sérum et sont négligeables dans nos analyses). Dans un travail récent, BAERNSTEIN ⁽⁸⁾ a montré que, pour de nombreux protéides, la somme : soufre de la cystine ($-S-S-$ ou $-SH$), plus le soufre de la méthionine ($-S-CH_3$) dosés séparément, représente à peu près le soufre organique total. Si l'on s'en rapporte à BLANKENSTEIN et FISCHER ⁽¹⁵⁾ ou à SØRENSEN ⁽⁹²⁾, page 71, il faudrait admettre que les différentes fractions d'un même protéide ont des teneurs en cystine et en tryptophane fort variables. Dans de nombreux cas nous avons dosé au moyen de la méthode de FOLIN et MARENCZI ⁽³⁹⁾ le tryptophane et la tyrosine des fractions de protéides que nous avons préparées. Des contrôles effectués dans ce laboratoire même par H. METZGER et publiés dans sa thèse ⁽⁷³⁾ sont loin de donner toute confiance dans les résultats que fournit cette méthode colorimétrique, au moins en ce qui concerne le tryptophane. Mais on peut dire que ces résultats

sont comparables entre eux. L'analyse des protéides provenant de la fraction F_1 donne une teneur en tryptophane de 0,81 pour un chiffre d'azote de 16,3. Pour la fraction F_2 , on obtient 0,67 pour une teneur en azote de 16,0. F_3 donne 0,96 pour une teneur en azote de 15,5. Ainsi le tryptophane, dans les chaînes peptidiques de la sérum-albumine, ne se présente pas comme lié à un groupement prosthétique fondamental. Il paraît en être de même pour la cystine et probablement aussi pour la méthionine. Tandis que la teneur en cystine des diverses fractions d'un protéide paraît assez variable, la teneur en soufre organique total est sensiblement constante. KOSSEL appela groupement prosthétique un groupement défini et essentiel de la molécule albuminoïde et qui en détermine approximativement la grandeur. L'atome de soufre, comme le groupe arginyl se présentent comme le ferait un constituant qui n'appartiendrait qu'au groupement prosthétique. Cependant la teneur variable en cystine des fractions d'un protéide du sérum fait penser que le soufre intervient aussi dans la composition des éléments labiles de l'édifice.

Une autre conséquence de ces résultats est l'existence d'un rapport sensiblement constant entre les teneurs en arginine et en soufre organique total des fractions préparées à partir d'un même protéide. Les valeurs moyennes de ces rapports ont été portées sur le tableau IX et jointes aux résultats antérieurs obtenus en collaboration avec Th. CAHN⁽²³⁾. Nous avons exprimé ces rapports à l'aide des teneurs moléculaires en arginine et des teneurs en atomes grammes de soufre, de manière à faire ressortir éventuellement des rapports simples. La fixité de teneur en arginine accompagnée de la constance relative du rapport $\frac{A}{S}$ pour différentes fractions d'un même protéide du sérum, révèle d'abord l'existence d'un élément défini et régulateur dans la molécule complexe.

Dans notre hypothèse, le noyau central des micelles d'un protéide serait une combinaison chimique définie. Les chaînes de polypeptides qui constitueraient une grande partie et souvent même la totalité des chaînes latérales, pourraient être de composition globale relativement très variable suivant l'échantillon. Certaine particularité de leur constitution pourrait fournir les possibilités de liaison avec une chaîne du noyau central. Alors cette particularité serait représentée dans la composition de diverses fractions par un élément moins variable que d'autres. Le soufre qui figure avec cette qualité dans la composition des substances étudiées ici paraît bien jouer un rôle important dans les liaisons mobiles et vraisemblablement latérales des constituants de l'édifice. MASTIN et SCHRYVER⁽⁷¹⁾ ont constaté une apparition de groupes — SH libres au cours de la désagrégation de l'ovalbumine en milieu acide. HOPKINS⁽⁵²⁾ considère la dénaturation de divers protéides comme liée à un déplacement de la fonction du soufre dans la molécule, de telle sorte que le produit dénaturé donne avec un agent réductible une réaction caractéristique du groupe — SH. Ainsi dans notre hypothèse, des liaisons plus ou moins mobiles peuvent être envisagées pour l'ovalbumine et les protéides du sérum, entre des atomes de soufre situés les uns le long des chaînes du noyau central, les autres le long des chaînes latérales qui leur sont associées. Il s'agirait alors de véritables liaisons

chimiques. La différence des rapports arginine/soufre pour la sérum-albumine et pour la sérum-globuline, considérée comme la manifestation d'une différence de structure des noyaux de ces deux protéides, permettrait de comprendre pourquoi leur séparation est relativement facile. En outre, la teneur à peu près identique de ces deux protéides en arginine aurait pour conséquence des analogies dans la structure de leurs noyaux, rendant possibles des échanges de chaînes latérales entre eux comme le pense très généralement SÖRENSEN. Dans ces conditions, le résultat atteint par différentes méthodes serait une séparation des noyaux.

Ce qui donne à nos yeux une valeur à cette représentation de la molécule protéidique, c'est qu'elle permet des applications et peut servir d'hypothèse de travail pour entreprendre l'étude de nombreuses questions de chimie biologique qui attendent leur solution. Un exemple simple se rapporte aux protéides du sérum. On se rappelle que dans un travail déjà ancien, H. CHICK ⁽²⁶⁾ confirmant HANDOWSKI, montra que dans la précipitation d'une pseudo-globuline par une lécithine on obtenait une euglobuline. En conformité avec l'hypothèse que nous proposons, on peut rechercher dans la constatation de CHICK l'effet possible de la substitution de chaînes latérales par suite du changement de l'équilibre de dissociation des constituants de ces chaînes en solution. Les corps nommés eu- et pseudo-globuline peuvent ne différer que par une ou plusieurs chaînes latérales lipidiques, ce qui ne troublerait pas dans son essence une homéométrie commune à ces deux groupes.

TABLEAU IX

Rapport moyen de la teneur en molécules d'arginine à la teneur en atomes de soufre des protéides qui constituent quelques tissus et le sérum de différents mammifères :

$$\text{rapport A/S} : \frac{\text{arginine } \%}{\text{soufre } \%} \times 0,184$$

Tissu, humeur ou protéides	Espèces	A/S	Calculé d'après :
Muscleuse intestinale.....	Chien	1,87	Th CAHN et A. BONOT ⁽²³⁾
Muscle strié.....	Diverses	1,355	»
Rein.....	Chien	1,335	»
Cerveau.....	Chien	1,14	»
Muqueuse intestinale.....	Chien	1,045	»
Sérum.....	Homme	0,874	Tableau VIII
	Cheval	0,927	»
	Bœuf	0,913	»
	Chien	0,924	»
Sérum albumine.....	Diverses	0,57	»
Sérum globuline.....	Diverses	1,14	»

EXISTENCE D'ÉQUILIBRES RÉGLANT LA COMPOSITION GLOBALE DES PROTÉIDES DANS LE SÉRUM ET QUELQUES TISSUS

Dans le tableau IX, nous avons réuni certains résultats (rapports $\frac{A}{S}$) de nos recherches actuelles sur la composition des protéides du sérum d'hommes ou d'animaux normaux (à jeûn depuis 12 heures au moins) et des résultats obtenus antérieurement en collaboration avec Th. CAHN. Pour des fractions bien définies et bien distinctes de sérum-globuline ou de sérum-albumine, de différentes espèces, le valeur du rapport $\frac{A}{S}$ paraît être caractéristique du protéide considéré. Nous ne pouvons encore rien dire du gliode dont la préparation n'est pas au point, mais il est cependant probable que le rapport des teneurs en arginine et en azote des chaînes peptidiques de ce protéide est le même que pour les autres protéides du sérum. Sa teneur en soufre est nettement basse (*). On peut admettre aussi que certaines fractions extrêmes d'un protéide du sérum difficiles à séparer de fractions extrêmes d'un autre protéide, peuvent avoir une composition différente de celles que nous avons étudiées.

Sans accorder aux méthodes de séparation des protéides actuellement en usage une valeur générale qu'elles n'ont certainement pas, on doit cependant admettre que les résultats différents que l'on obtient dans la séparation des protéides de sérums appartenant à différentes espèces ou même à différents individus d'une même espèce, sont dus à ce que les proportions mutuelles des protéides diffèrent d'un sérum à l'autre.

Les protéides totaux de sérums de diverses espèces ont été préparés par précipitation du sérum à l'acétone (deux précipitations successives). En dépit de différences certaines dans les proportions mutuelles des protéides présents dans des sérums aussi dissemblables que ceux du chien et du cheval, le rapport $\frac{A}{S}$ est le même pour les protéides totaux provenant de ces sérums. Ce rapport approximativement défini serait caractéristique des protéides du sérum normal, comme le rapport que nous avons déterminé avec Th. CAHN sur les protides des muscles de différentes espèces est caractéristique pour le muscle. Cela signifie qu'un équilibre régulateur existe où sont engagés les différents composants protéidiques que l'on peut séparer réversiblement du sérum. On doit admettre d'ailleurs un équilibre complexe de même nature dans les muscles et probablement aussi dans de nombreux tissus.

(*) La teneur des protides du gliode en tyrosine est très inférieure à celles de la globuline et de la sérum-albumine, ce qui constitue un caractère distinctif de plus.

CHAPITRE VII

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1^o Si l'on s'appuie sur la loi de partage d'une espèce de molécules entre deux phases, on peut étudier théoriquement la distribution d'un mélange défini A, de composants étroitement homéomères entre eux, et de même poids moléculaire entre une solution et une phase solide unique. On peut établir entre la solubilité s et la quantité Z du mélange A présente dans l'ensemble des deux phases pour 100 grammes de solvant la relation :

$$\frac{1}{Z} = \sum \frac{a_i}{Z - s + k_i}.$$

où a_i est la concentration relative du composant i dans le mélange A et k_i le coefficient de partage du composant i entre solution et précipité. La solubilité limite, atteinte quand on peut ajouter des quantités nouvelles du mélange A sans modifier l'équilibre existant dans chacune des deux phases, est donnée par la relation :

$$s_{\text{lim}} = \sum a_i \cdot k_i.$$

La solubilité limite d'un mélange d'espèces étroitement homéomères entre elles est une fonction linéaire et homogène des solubilités des espèces composantes. Elle est comprise entre leurs valeurs extrêmes.

2^o Nous avons réalisé une étude expérimentale de la solubilité d'une fraction A de sérum-albumine dans des solutions de sulfate d'ammoniaque dont chacune avait une concentration saline et un pH déterminés et constituait un milieu défini. Pour 100 grammes d'eau libre d'un de ces milieux solvants, la quantité s de protéide dissoute (comptée à l'état d'hydrate de protéide) est variable en fonction de la quantité Z de fraction A utilisée dans l'expérience. Pour des expériences faites à différentes concentrations en sulfate d'ammoniaque le pH du milieu solvant étant sensiblement le même, les courbes qui représentent la variation de s en fonction de Z sont approximativement homothétiques. Une forte concentration des solutions en hydrate de protéide ne semble pas influencer de manière sensible l'allure du phénomène observé. Les caractères de la solubilité ne paraissent pas se rapporter à une dissociation réversible de la sérum-albumine ; ils indiquent surtout que le protéide est hétérogène.

La solubilité limite, seule définie, d'une fraction de sérum-albumine est pratiquement atteinte lorsque le rapport de la quantité de protéide hydraté dissoute à la quantité mise en œuvre pour 100 grammes d'eau libre de la solution devient inférieur à 0,01. Avec trois fractions de sérum-albumine dont les solu-

bilités limites dans le même milieu solvant étaient différentes, nous avons réalisé plusieurs mélanges. La valeur expérimentale de la solubilité limite, dans le solvant choisi, de l'un quelconque de ces mélanges est comprise entre les solubilités limites extrêmes des fractions composantes et se trouve très approximativement représentée par une fonction linéaire et homogène des solubilités limites des fractions composantes, cette fonction pouvant être obtenue théoriquement si l'on considère ces fractions comme formées des mêmes composants étroitement homéomères entre eux. L'homéomérie des particules qui constituent la sérum-albumine étant ainsi démontrée, il est possible de généraliser la formule de COHN qui relie la solubilité d'un protéide à la concentration du sel neutre de sa solution ; elle devient alors :

$$\log k_i = \alpha \cdot S + \beta_i$$

S désignant la masse de sel neutre dans 100 grammes d'eau du solvant, k_i le coefficient de partage du composant i entre solution et précipité ; β_i est un coefficient particulier au composant i tandis que α est une constante identique pour tous les composants du système. Cette relation est applicable à des mélanges de substances étroitement homéomères aussi bien qu'à des corps purs.

3° Si l'on accepte la conception physiologique d'un noyau prosthétique central dans la molécule protéidique, on peut esquisser la description d'une micelle. Une micelle protéique posséderait un noyau central défini qui serait constitué par des chaînes de peptides, ces chaînes étant reliées l'une à l'autre, par une liaison chimique ordinaire de manière à former une longue chaîne fermée ou dans les plus grosses molécules un assemblage défini de chaînes fermées. A ce noyau pourraient être reliées par des liaisons plus ou moins mobiles des chaînes latérales. Le noyau central défini fixe la forme du cristallite à l'état solide. Il rend compte de l'homéomérie chimique des particules d'un protéide.

4° L'étude de la composition des protéides du sérum de plusieurs espèces de mammifères montre que le rapport des teneurs en arginine et en soufre organique total est caractéristique pour chacun de ces protéides sans être pour cela rigoureusement défini. Le rapport des teneurs en arginine et en azote est très sensiblement le même pour les différents protéides du sérum et pour diverses espèces. Ces résultats témoignent en faveur de l'existence d'un élément défini dans l'édifice protéidique. La composition des protéides totaux de sérums normaux de quelques espèces de mammifères est telle que le rapport des teneurs en arginine et en soufre organique total diffère peu d'une espèce à l'autre. En 1928, nous avons montré en collaboration avec CAHN que les rapports des teneurs en arginine et en soufre organique total étaient sensiblement les mêmes pour les protéides totaux des muscles d'espèces diverses de mammifères et d'oiseaux. Nous avons de même dégagé des rapports caractéristiques pour les tissus différenciés de plusieurs espèces de mammifères.

BIBLIOGRAPHIE

1. G. S. ADAIR. — *Skandin. Arch. f. Physiol.*, **49**, 77, 1926.
2. G. S. ADAIR, N. CORDERO et SHEN. — *Journ. of. Physiology*, **67**, 288, 1929.
3. E. ADAMS. — *Journ. amer. chem. Soc.*, **38**, 1503, 1916.
4. A. ADNOT. — *Contribution à l'étude des protéides du Sérum*. Thèse Faculté Médecine Strasbourg., 1931.
5. H. AMBRONN. — *Kolloid Zeitschr.*, **18**, 90, 1916.
H. AMBRONN. — *Kolloid Zeitschr.*, **18**, 273, 1916.
H. AMBRONN. — *Kolloid Zeitschr.*, **20**, 173, 1917.
6. W. T. ATSBURY et A. STREET. — *Philos. Trans. Roy. Soc.*, **230**, 75, 1930.
7. W. T. ATSBURY et H. J. WOODS. — *Nature*, décembre 1930.
8. H. D. BAERNSTEIN. — *J. of biol. Chem.*, **97**, 663, 1932.
9. G. BARGER et F. P. COYNE. — *Biochem. J.*, **22**, 1417, 1928.
10. BARRENSCHEN et MESSINER. — *Biochem. Zeitschr.*, **209**, 251, 1929.
11. M. BERGMANN. — *Ber. deutsch. chem. Gesell.*, **59**, 2973, 1926.
12. G. BERNARD. — *Traité de Chimie anatomique*, par C. Robin et F. Verdeil (Paris), 299, 1853.
13. T. W. BIRCH et L. J. HARRIS. — *Biochem. J. nal.* **24**, 1080, 1930.
14. N. BJERRUM. — *Zeitschr. f. physik. Chem.*, **104**, 147, 1923.
N. BJERRUM. — *Zeitschr. f. physik. Chem.*, **106**, 219, 1923.
15. A. BLANKENSTEIN et A. FISCHER. — *Biochem. Zeitschr.*, **224**, 221, 1930.
16. A. BONOT. — *C. R. Acad. des Sciences*, **195**, 1048, 1932.
17. A. BONOT et Th. CAHN. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **9**, 1001, 1927.
18. G. E. K. BRANCH et S. MIYAMOTO. — *J. amer. chem. Soc.*, **52**, 863, 1930.
19. R. BRILL. — *Liebigs Ann. der Chem.*, **434**, 204, 1923.
20. BRÖNSTED. — *J. amer. chem. Soc.*, **44**, 877, 1922.
J. N. BRÖNSTED. — *J. amer. chem. Soc.*, **44**, 938, 1922.
J. N. BRÖNSTED. — *J. amer. chem. Soc.*, **45**, 2898, 1923.
21. N. F. BURK et D. M. GREENBERG. — *J. Biol. Chem.*, **87**, 197, 1930.
22. Th. CAHN. — *Actual. scient. et indust.*, **64**, 1933.
23. Th. CAHN et A. BONOT. — *Constitution et évolution de la molécule des protéides* (Annales de *Physiol.*), **4**, 871, 1928.
24. G. CHAMPETIER. — *Combinaisons d'addition de la cellulose* (Thèse Fac. des Sciences de Paris), 1933.
25. H. CHICK. — *Biochem. J. nal.*, **7**, 318, 1913.
26. H. CHICK. — *Biochem. J. nal.*, **8**, 404, 1914.
27. H. CHICK et C. J. MARTIN. — *Biochem. Jnal.*, **7**, 380, 1913.
28. E. J. COHN. — *Physiol. Reviews*, **5**, 349, 1925.
29. E. J. COHN. — *Ergebnisse der Physiol.*, **33**, 834, 1931.
30. E. J. COHN et A. M. PRENTISS. — *J. of gen. Physiol.*, **8**, 619, 1927.
31. J. A. DAUPHINES et A. HUNTER. — *Biochem. Jnal.*, **24**, 1128, 1930.
32. P. DEBYE et J. Mc AULAY. — *Physik. Zeitschr.*, **26**, 22, 1925.
33. P. DEBYE et E. HUCKEL. — *Physik. Zeitschr.*, **24**, 185, 1923.
34. G. ETTISCH, H. SACHSSE et W. BECK. — *Biochem. Zeitschr.*, **230**, 68, 1931.
35. K. FÉLIX et K. DIRR. — *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, **184**, 111, 1929.
36. K. FÉLIX et A. LANG. — *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, **188**, 96, 1930.
K. FÉLIX et A. LANG. — *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, **193**, 1, 1930.
37. A. FISCHER et A. BLANKENSTEIN. — *Biochem. Zeitschr.*, **220**, 380, 1930.
A. FISCHER et A. BLANKENSTEIN. — *Biochem. Zeitschr.*, **228**, 437, 1930.
A. FISCHER et A. BLANKENSTEIN. — *Biochem. Zeitschr.*, **231**, 404, 1931.

38. FOCK. — *Ber. deutsch. chem. Gesell.*, **28**, 408, 28, 2734.
39. O. FOLIN et A. D. MARENZI. — *J. of Biol. Chem.*, **83**, 89, 1929.
40. P. GRABAR. — *C. R. Soc. Biol.*, **112**, 1094, 1933.
41. A. A. GREEN. — *J. of. biol. Chem.*, **95**, 47, 1932.
42. H. HANDOVSKY et R. WAGNER. — *Biochem. Zeitschr.*, **26**, 32, 1911.
43. W. B. HARDY. — *J. of Physiol.*, **33**, 251, 1905.
44. W. B. HARDY et S. GARDINER. — *J. of Physiol.*, **40**, 68, 1910.
45. L. J. HARRIS. — *Biochem. Jnal.*, **24**, 1080, 1930.
46. R. O. HERZOG et H. W. GONELL. — *Ber. Deutsch. chem. Gesell.*, **58**, 2228, 1925.
47. R. O. HERZOG et W. JANCKE. — *Ber. Deutsch. chem. Gesell.*, **53**, 2162, 1920.
48. R. O. HERZOG et W. JANCKE. — *Zeitschr. f. physik. Chem.*, **139**, 235, 1928.
49. K. HESS. — *Chemie der Cellulose*, Leipzig 1928.
50. L. F. HEWITT. — *Biochem. Jnal.*, **21**, 216, 1917.
51. T. HOFMEISTER. — *Arch. exp. Path. u. Pharmacol.*, **24**, 247, 1887.
52. F. HOPKINS. — *Nature* (London), **24**, 247, 1887.
- 52 bis. F. HOPKINS et S. N. PINKUS. — *J. of. Physiol.*, **23**, 130, 1898.
53. E. HÜCKEL. — *Physik. Zeitschr.*, **26**, 93, 1925.
54. A. HUNTER et J. A. DAUPHINEE. — *J. biol. Chem.*, **85**, 627, 1930.
55. P. KARRER. — *Polymere Kohlenhydrate*, Leipzig, 1925.
56. J. R. KATZ et O. GERNGROSS. — *Kolloid Zeitschr.*, **39**, 181, 1926.
57. I. KOLTHOFF. — *Rec. Trav. chim. Pays-Bas et Belgique*, **44**, 68, 1925.
58. I. KOLTHOFF et F. TEKELENBURG. — *Rec. Trav. chim. Pays-Bas et Belgique*, **46**, 33, 1927.
59. O. KRATKY et S. KURIYAMA. — *Zeitschr. f. physik. Chem. (B)*, **11**, 363, 1930.
60. LANGMUIR. — *J. amer. chem. Soc.*, **39**, 1850, 1917.
61. G. N. LEWIS. — *Zeitschr. f. physik. Chem.*, **61**, 129, 1907.
62. G. N. LEWIS et M. RANDALL. — *Thermodynamics and the free energy of Chemical Substances* (Londres et New-York), 1923.
63. W. Mc LEWIS. — *Traité de Chimie physique* (traduction H. Vigneron), t. **2**, 225, 1921.
64. K. LINDERSTROM-LANG. — *C. R. Lab. Carlsberg*, vol. **15**, n° 4, 1924.
65. K. LINDERSTRÖM-LANG. — *C. R. Lab. Carlsberg*, vol. **17**, n° 9, 1929.
66. J. LOEB. — *Les protéines*, 1924.
67. B. LUSTIG et P. HAAS. — *Biochem. Zeitschr.* **231**, 472, 1931.
68. A. MACHEBŒUF. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, **11**, 268, 1929.
- A. MACHEBŒUF. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, **11**, 485, 1929.
69. A. MACHEBŒUF et G. SANDOR. — *Bull. Soc. Chim. biol.*, **14**, 1168, 1932.
70. H. MARK et K. H. MEYER. — *Zeitschr. f. physik. Chem. (B)*, **2**, 138, 1929.
71. H. MASTIN et S. B. SCHRYVER. — *Biochem. Jnal.*, **20**, 288, 1925.
72. J. MELLANBY. — *J. of. Physiol.*, **33**, 373, 1905.
73. H. METZGER. — *Recherches sur la constitution des proteides du sérum à l'état normal et pathologique* (Thèse de la Faculté de médecine de Strasbourg), 1932.
74. K. H. MEYER et H. MARK. — *Ber. deutsch. chem. Gesell.*, **61**, 1932, 1928.
75. K. H. MEYER et H. MARK. — *Biochem. Zeitschr.*, **208**, 1, 1929.
76. K. H. MEYER et H. MARK. — *Biochem. Zeitschr.*, **214**, 253, 1929.
77. O. MEYERHOF. — *Die chemischen Vorgänge im Muskel und ihr Zusammenhang mit Arbeitsleitung und Wärmebildung*. (Monographien Physiol., 22, Berlin), 1930.
78. J. H. MUELLER. — *Proc. Soc. exp. Biol. and. Med.*, **18**, 14, 1921.
79. NERNST. — *Zeitschr. f. physik. chem.*, **8**, 110, 1891.
80. M. PAIC. — *Bull. Soc. Philomath.*, **115**, 89, 1932.
81. PANUM. — *Virchows. Arch. path. Anat.*, **4**, 419, 1852.
82. W. PAULI. — *Kolloid Zeitschr.*, **51**, 27, 1930.
83. W. PAULI. — *Sitzung der Math. Naturw. Klasse der Akademie der Wissenschaft (in Wien)*, 1923.
84. M. PIETTRE et A. VILA. — *C. R. Acad. des Sciences*, **170**, 1466, 1920.
84. M. PIETTRE et A. VILA. — *C. R. Acad. des Sciences*, **171**, 371, 1920.
85. G. SCATCHARD. — *Chemical Reviews*, **3**, 383, 1927.
86. P. SCHERRER. — (dans Zsyzgmondy) *Lehrbuch der Kolloidchemie*, 3^e édition, 387, 1920.

87. C. L. SCHMIDT, P. L. KIRK et W. K. APPLEMAN. — *J. of Biol. Chem.*, **88**, 285, 1930.
88. SETSCHENOW. — *Ann. Chim. et Phys.*, série 6, **25**, 226, 1892.
89. B. SJÖGREN et T. SVEDBERG. — *J. amer. chem. Soc.*, **52**, 3279, 1930.
B. SJÖGREN et T. SVEDBERG. — *J. amer. chem. Soc.*, **52**, 3650, 1930.
B. SJÖGREN et T. SVEDBERG. — *J. amer. chem. Soc.*, **53**, 2651, 1931.
90. S. P. L. SÖRENSEN. — *C. R. trav. lab. Carlsberg*, vol. **12**, 1915, 1917.
91. S. P. L. SÖRENSEN. — *C. R. trav. lab. Carlsberg*, vol. **15**, n° 11, 1925.
92. S. P. L. SÖRENSEN. — *C. R. trav. lab. Carlsberg*, vol. **18**, n° 5, 1930.
93. J. B. SPEAKMAN. — *J. Text Ind.*, **18**, 431, 1927.
94. H. STAUDINGER. — *Ber. deutsch. chem. Gesell.*, **59**, 3019, 1926.
95. H. STAUDINGER et W. HEUER. — *Ber. deutsch. chem. Gesell.*, **62**, 2893, 1929.
96. S. STAUDINGER et W. HEUER. — **63**, 222, 1930.
96. H. STAUDINGER. — *Liebigs Ann. d. Chem.*, **474**, 152, 1929.
97. T. SVEDBERG. — *Nature*, **127**, 438, 1931.
98. T. SVEDBERG, L. M. CARPENTER et D. C. CARPENTER. — *J. amer. chem. Soc.*, **52**, 341, 1930.
T. SVEDBERG, L. M. CARPENTER et D. C. CARPENTER. — *J. amer. chem. Soc.*, **52**, 701, 1930.
99. T. SVEDBERG et F. F. HEYROTH. — *J. amer. chem. Soc.*, **51**, 550, 1929.
100. T. SVEDBERG et J. B. NICHOLS. — *J. amer. chem. Soc.*, **49**, 2920, 1927.
101. T. SVEDBERG et B. SJÖGREN. — *J. amer. chem. Soc.*, **50**, 3318, 1928.
102. T. SVEDBERG et B. SJÖGREN. — *J. amer. chem. Soc.*, **51**, 3594, 1929.
T. SVEDBERG et B. SJÖGREN. — *J. amer. chem. Soc.*, **52**, 279, 1930.
103. T. SVEDBERG et A. J. STAMM. — *J. amer. chem. Soc.*, **51**, 2170, 1929.
104. J. J. TRILLAT. — *Actual. scient. et ind.*, n° **25**, 1931.
105. J. J. TRILLAT. — *J. de Chimie physique*, **29**, 1, 1932.
106. G. URBAIN. — *Les disciplines d'une science. La Chimie*, G. Doin. Paris, 1921.
107. VANT'HOFF. — *Lectures*, tome **2**, p. 75.
108. H. VERSMOLD et H. WEBER. — *Biochem. Zeitschr.*, **234**, 62, 1931.
109. H. B. VICKERY. — *Yale J. of Biol. and Med.*, **4**, 595, 1932.
110. VIRCHOW. — *Virchows Arch. path. Anat.*, **6**, 572, 1854.
111. F. VLÈS et E. VELLINGER. — *Bull. Soc. chim.*, **37**, 771, 1925.
112. L. WALBUM. — *C. R. Soc. de Biol.*, **83**, 707, 1920.
113. É. WALDSCHMIDT-LEITZ, F. ZIEGLER, A. SCHAFFNER et L. WEIL. — *Zeitschr. f. physiol. Chem.*, **197**, 219, 1931.
114. WILLSTÄTTER KRAUT et ERBACHER. — *Ber. deutsch. chem. Gesell. (B)*, **58**, 2248, 1925.
115. E. G. YOUNG. — *Proc. Roy. Soc. London (B)*, **93**, 15, 1922.

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE PREMIER. — <i>Introduction</i>	1
CHAPITRE II. — <i>La structure des protéides à l'état solide et en solution</i>	4
1° Étude de la structure des corps à grosses molécules par les rayons X.....	4
2° Poids moléculaires des protéides. Dissociations réversibles de certains protéides en solutions diluées.....	7
3° Caractère ampholyte des protéides	9
CHAPITRE III. — <i>La solubilité des protéides</i>	12
1° Solubilité dans des solutions de sels neutres de concentration saline variable	12
2° La séparation des protéides du sérum.....	14
3° Solubilité des protéides dans des solutions de concentration saline et de réaction fixées	17
4° La solubilité d'un mélange de substances étroitement homéomères entre elles	19
CHAPITRE IV. — <i>Recherches expérimentales sur la solubilité des protéides dans des solutions concentrées de sels neutres</i>	25
Hydratation de la sérum-albumine et de la sérum pseudo-globuline de bœuf.....	27
Expériences où varie la quantité de protéide mise en présence d'une quantité donnée de solvant.....	30
La solubilité limite	37
Caractère de l'hétérogénéité des protéides	41
CHAPITRE V. — <i>La structure intime des micelles protéidiques</i>	46
CHAPITRE VI. — <i>Recherches sur la composition des protéides</i>	51
CHAPITRE VII. — <i>Résumé et conclusions</i>	59
CHAPITRE VIII. — <i>Bibliographie</i>	61

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

VALENCES PRIMAIRES ET SECONDAIRES

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 18 Janvier 1934.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,
MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,
S. CHARLÉTY.

IMPRIMERIE DES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE. Paris-Saint-Amand. — 29-1-1934.

